

Zur Frage des Frühtodes röntgenbestrahlter

Drosophila - Eier

(Histologische Untersuchung)

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

der Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Johann Wolfgang Goethe - Universität

zu Frankfurt am Main

vorgelegt von

Lieselotte Steenbeck

aus Berlin

1963

1962



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554805_0036

Zur Frage des Fröhntodes röntgenbestrahlter

Drosophila - Eier

(Histologische Untersuchung)

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
zu Frankfurt am Main**

**vorgelegt von
Lieselotte Steenbeck
aus Berlin**

1962

1. Gutachter: Prof. Dr. Rajewsky

2. Gutachter: Prof. Dr. Giersberg

Tag der mündlichen Prüfung: 5. Juli 1963

Tag der Promotion: 8. Juli 1963



Inhalts - Übersicht

1)	Einleitung und Literatur-Übersicht	4
2)	Material und Methode	10
3)	Die Embryonal-Entwicklung von Drosophila	14
4)	Bestimmung der Schlüpfzeiten	26
5)	Zur Homogenität der Drosophila-Eier	29
6)	Die Verteilung der Eier auf einzelne Entwicklungsstadien bei unterschiedlichen Bestrahlungsdosen	33
7)	Über den "Soforttod" der Drosophila-Eier nach Röntgenbestrahlung	43
8)	Zur Histologie der bestrahlten Drosophila-Eier	48
9)	Zur Cytologie der geschädigten Drosophila-Eier	54
10)	Diskussion der Ergebnisse	58
11)	Zusammenfassung der Ergebnisse	63
12)	Literatur-Verzeichnis	64

Einleitung und Literatur-Übersicht

Das Thema der vorliegenden Arbeit geht auf eine Anregung von Professor RAJEWSKY zurück, der auf der Suche nach einem geeigneten Objekt für die biologische Dosierung ionisierender Strahlen Bestimmungen der Schlüpfraten bestrahlter *Drosophila*-Eier durchführte. Dabei erhob sich die Frage, zu welchem Zeitpunkt in der Entwicklung die geschädigten, nicht geschlüpften Eier absterben; dieser mußte von der angewandten Dosis abhängig sein.

Mit der Bestimmung der Schlüpfraten von *Drosophila*-Eiern nach Röntgenbestrahlung befaßte sich erstmalig PACKARD (1926, 1927). Er bestrahlte die Eier 0 bis 3 Stunden nach der Ablage und stellte Dosiseffektkurven auf. Auf ihn geht auch der Vorschlag zurück, *Drosophila*-Eier als biologisches Dosimeter zu verwenden. Diese Diptere war durch genetische Untersuchungen gut bekannt, und ihre Eier stehen wie die vieler Insekten das ganze Jahr über zur Verfügung.

HENSHAW (1933, 1936) griff das Thema auf und führte Versuche über die Abhängigkeit des Dosiseffektes vom Alter der bestrahlten Eier durch. Er stützte sich auf die Beobachtung von MAVOR (1921), daß in der Metamorphose des *Drosophila*-Embryos die frühen Entwicklungsstadien besonders empfindlich sind und wies nach, daß Eier, die im Alter von 0 bis 2 Stunden oder 1 bis 3 Stunden bestrahlt wurden, am stärksten betroffen werden. Auf späteren Entwicklungsstadien bestrahlte Eier weisen eine größere Resistenz auf. Das bedeutet, das Stadium der Blastula ist empfindlicher als das der Gastrula oder weiter differenzierter Entwicklungsstufen.

HENSHAW verglich die Wirkung von Röntgenstrahlen (200 kV) mit der von Alpha-Teilchen (200 kV) und stellte eine unterschiedliche Empfindlichkeit der Eier fest. Sie verhielten sich gegenüber den α -Strahlen resistenter. Der Autor erklärte dieses durch die kürzere Reichweite der α -Teilchen und die dadurch bedingte geringere Schädigung der

Zellkerne; es werden nur die an der Peripherie des Eies liegenden Kerne betroffen.

Einen Vergleich der Reaktion von Drosophila-Eiern auf Röntgenstrahlen und Bestrahlung mit ultravioletttem Licht führten LANGENDORFF und SOMMERMEYER (1939) durch. Danach ist die Form der Abtötungskurve der Eier nach Behandlung mit Röntgenstrahlen stark abhängig vom Ei-Alter, während die Abtötung durch UV-Licht wenig vom Alter der Eier zum Zeitpunkt der Bestrahlung beeinflußt wird. Die Verfasser nehmen an, daß UV geringere Schäden an den Kernen auslösen als Röntgenstrahlen. Im Laufe weiterer Arbeiten kommen die Autoren zu der Auffassung, daß nach Bestrahlung mit UV Eier eines großen Altersbereiches durch nur einen Treffer geschädigt werden, während dieses nach Röntgenstrahlen nur für 4 Stunden alte Eier zutrifft. Es wird angenommen, daß der Angriffspunkt des ultravioletten Lichtes in den einzelnen Genen liegt, Röntgenstrahlen dagegen an allen Orten der Chromosomen Schädigungen hervorrufen (1940a, 1940b, 1940c).

Seit 1950 erschienen in rascher Folge weitere Arbeiten über die Bestrahlung embryonalen Gewebes. Besonders die Untersuchungen von FRITZ-NIGGLI sind hier zu nennen. Während die älteren bisher angeführten Arbeiten an Eiern durchgeführt wurden, die altersmäßig ein sehr inhomogenes Gemisch darstellen (die Ablegezeiten schwanken zwischen einer und drei Stunden), faßte FRITZ-NIGGLI Eier zusammen, die nicht länger als über einen Zeitraum von 30 min abgelegt wurden. Sie konnten nachweisen (1952), daß das Stadium der Blastembildung am empfindlichsten gegenüber der Einwirkung ionisierender Strahlen ist. Eine Dosis von 400r, im Ei-Alter von 1 3/4 Stunden gegeben, ruft bei 95 % der Eier eine Schädigung hervor; es vermochten nur 5 % der Embryonen zu schlüpfen (bei ihnen handelt es sich möglicherweise um Eier, die zur Bestrahlungszeit schon wei-

ter entwickelt waren als bis zur Blastula). FRITZ-NIGGLI trifft eine Einteilung der Schädigungsarten nach dem Zeitpunkt des Absterbens der bestrahlten Eier; auf sie gehen die Bezeichnungen "Soforttod", "Frühtod" und "Spättod" zurück. Bei der Bestrahlung früher Entwicklungsstadien tritt Soforttod oder Frühtod ein, d.h. die Embryonen sterben entweder unmittelbar nach der Bestrahlung oder auf frühen Stufen der Embryonalentwicklung. Werden dagegen die Eier 5 1/2 Stunden und später nach der Ablage bestrahlt, so vermögen sie sich zwar noch bis zur Schlüpfreife zu entwickeln, zeigen jedoch schwere Integumentstörungen und Körperwandlücken und sind daher nicht mehr in der Lage, den Schlüpfakt zu vollziehen. Sind die Embryonen zur Zeit der Bestrahlung 8 Stunden und älter, entwickeln sich aus ihnen zwar noch Larven, es kommt aber nicht mehr zur Verpuppung.

FRITZ-NIGGLI schließt eine treffertheoretische Deutung der Strahlenwirkung aus, da für die Abtötung 5 1/2 Stunden und 8 Stunden alter Eier ein bestimmter Schwellenwert der Dosis nötig ist und zum anderen die Empfindlichkeit verschiedener Altersstufen in kurzen Abständen variiert.

Ein Vergleich der Schädigung nach Bestrahlung mit 180 kV und 31 MeV (FRITZ-NIGGLI 1954, 1955) ergab keinen Unterschied, wenn die Organismen 1 Stunde bis 1 3/4 Stunden alt waren, während die 180 kV Röntgenstrahlen sich für 4 bis 7 Stunden alte Eier als wirksamer erwiesen.

Die Verfasserin zeigt an Hand einer Aufstellung die altersabhängige Strahlenempfindlichkeit der Drosophila-Eier. So ist die Halbwertsdosis für das Stadium der Blastula 163r, für 8 Stunden alte Eier dagegen 5000r. Nach FRITZ-NIGGLI überwiegt bei ersteren der momentane Entwicklungsstop nach einer Dosis mit 80 %iger Letalität, älter bestrahlte Eier sterben erst auf späteren Entwicklungsstufen (Spättod). Die starke Abnahme der Strahlensensibilität mit steigender Differenzierung führt die Autorin darauf zurück, daß die Zellen in ihrer Differenzie-

rungsfähigkeit gestört werden, wenn die Bestrahlung vor der Ausbildung der Gastrula erfolgt; es kommt zu einer Schädigung der Vorstufen von Differenzierungsstoffen (1959).

Behandelten die bis hier zitierten Arbeiten den Strahlenschaden nach Totalbestrahlung der Eier, beschäftigen sich die Untersuchungen von ULRICH und BORSTEL mit der Frage nach den Entwicklungsstörungen, die auftreten, wenn nur einzelne Bezirke des Insekteneies bestrahlt werden. Da die Empfindlichkeit der Eier stark von der Lage des Eikernes abhängt (ULRICH 1951), wählten AMY und BORSTEL (1957, 1958) sowie ROGERS und BORSTEL (1957) bei der Untersuchung des Habrobracon-Eies so frühe Entwicklungsstadien für die Bestrahlung aus, daß sie einmal mit der konvexen Seite des Eies den Kern trafen, zum anderen nur Plasma bestrahlten, wenn die konkave Seite der Strahlungsquelle zugewandt war. Bei der Bestimmung der Schlüpf^orate der mit UV (2220 - 3020 Å) behandelten Eier zeigte sich sowohl qualitativ als auch quantitativ ein deutlicher Unterschied beider Versuchstypen: Während Embryonen, deren konvexe Eihälfte bestrahlt worden war, schon nach einer Dosis von 400 erg/mm^2 (2537 Å) zu 90% vor der Schlüpf^oreife starben, liegt die Schlüpf^offähigkeit der auf der kernlosen Seite bestrahlten Eier bei derselben Dosis und Wellenlänge noch bei 100 %. Die nichtgeschlüpf^oten Eier des ersten Versuches waren auf einem sehr frühen Entwicklungs-Stadium abgestorben; ihre embryonale Differenzierung hörte bereits bei den ersten Zellteilungen auf. Diese Ergebnisse stehen in guter Übereinstimmung mit denen von AMY (1955). Erführte den gleichen Versuch mit Röntgenstrahlen durch. Die auf der konkaven Seite bestrahlten Eier brechen ihre Entwicklung auf einem späteren Stadium ab und weisen ein sehr unterschiedliches Schädigungsmuster auf; der Tod tritt typisch erst nach der Organogenese ein.

Die ersten Versuche über die unterschiedliche Empfindlichkeit von Eikern und Plasma bei Drosophila wurden von ULRICH durchgeführt (1951, 1953, 1955, 1956). Er bestrahlte mit Röntgenstrahlen von 50 kV einmal die vordere Eihälfte von

Drosophila, zum anderen die hintere Eihälfte. Als sich starke Unterschiede im Ei-Abtötungsprozentsatz zeigten, ging er dazu über, das Ei in Fünftel von je 0,1 mm einzuteilen (1956, 1958); es stellte sich heraus, daß die Empfindlichkeit des zweiten vorderen Ei-Fünftels am größten ist. Es handelt sich dabei um den Bezirk, in dem sich bei einem 10 bis 20 min alten Ei der Kern befindet. ULRICH schloß daraus, daß für die überaus große Empfindlichkeit des zweiten Fünftels der Kern verantwortlich gemacht werden muß. Die Halbwertsdosen betragen 500r für das kernhaltige und 90 000r für das kernlose Eifünftel.

Auch der Verlauf der Dosiseffektkurven zeigt verschiedene Form. Während die Vorderhälftenbestrahlung eine exponentielle Kurve ergibt - ähnlich der von BORSTEL und WOLFF (1955) ermittelten Kurve für UV-bestrahlte kernhaltige Eihälften von Habrobracon - hat die Kurve der Hinterhälftenbestrahlung S-förmige Gestalt. Für das sensible kernhaltige Eifünftel ist die mitbestrahlte Plasmamenge in Bezug auf die Strahlenempfindlichkeit zu vernachlässigen; ULRICH spricht daher von einer "Kernkurve". Dagegen kann die Kurve der kernlosen Bezirke im Ei nicht allein aus der Reaktion des Plasmas auf die Bestrahlung hergeleitet werden. Aus technischen Gründen ist es nicht möglich, jegliche Streustrahlung im Bereich der kernhaltigen Eiregion auszuschließen. Es muß daher angenommen werden, daß die Empfindlichkeit des Kernes bei der Abtötungskurve der Hinterhälftenbestrahlung ebenfalls zum Ausdruck kommt.

Alle hier angeführten Untersuchungen haben als Kriterium für die Wirkung ionisierender Strahlen auf das Insektenei die Bestimmung der Schlüpfrate. Sie erfassen also einen relativ späten Zeitpunkt in der Embryonalentwicklung. Die Ei-Abtötungskurve ist aber das Ergebnis vieler zusammenwirkender Faktoren, wobei die eigentliche Schädigung schon sehr viel früher eingetreten sein kann. Die Masse der abgestorbenen

Embryonen wird der der geschlüpften gegenübergestellt; dabei wird keine Aussage darüber gemacht, wie sich die Schädigung auf die abgetöteten Eier ausgewirkt hat. Ohne Zweifel ist zur Erfassung der gesamten Strahlenwirkung die Bestimmung der Abtötungsrate unbedingt erforderlich; sie läßt aber viele Fragen offen. Sie sagt nichts darüber aus, ob die Gesamtheit der abgetöteten Embryonen einheitlich weit entwickelt ist oder ob sich Unterschiede ergeben, wenn verschieden starke Strahledosen verabreicht werden. Zu diesem Zweck ist es notwendig, eine histologische Untersuchung der nichtgeschlüpften Eier durchzuführen, durch welche geklärt werden kann, auf welchem Stadium der Embryonalentwicklung die Eier infolge der Bestrahlung stehengeblieben sind.

Material und Methode

a) Haltung der Zuchttiere

Die Versuche wurden an Eiern der Fruchtfliege *Drosophila melanogaster* Meig. (Institutsstamm Berlin) durchgeführt. Die Fliegen wurden in Zuchtflaschen gehalten, die mit einem Nährboden folgender Zusammensetzung belegt waren:

150 g	Grieß
100 g	Sirup
10 g	Agar
800 ml	Wasser

Zu dem gut durchgekochten Nährboden wurde zur besseren Haltbarkeit etwas Nipargin gegeben und nach dem Erkalten in den Zuchtgläsern einige Tropfen Hefelösung geträufelt.

Um eine zu starke Feuchtigkeit der mit Fliegen besetzten Gläser zu vermeiden, wurde gefaltetes Filtrierpapier in den Nährboden gesteckt.

Zur Ei-Ablage kamen 3 bis 5 Tage alte Imagines in die Zuchtflaschen und wurden für 12 bis 24 Stunden bei 25 °C in einen Thermostaten gestellt. War das Gelege reich genug, wurden die adulten Tiere abgeschüttelt, die Flaschen mit Pfropfen aus Watte und Zellstoff verschlossen und im Thermostaten belassen. Normalerweise schlüpfen die jungen Imagines nach etwa 12 Tagen.

b) Zur Gewinnung der Eier für die Versuche

2 bis 4 Tage alte Imagines wurden den Zuchtflaschen entnommen und in besondere Ablegegläser geschüttelt. Diese hatten als Verschluss anstelle des Wattestopfens Deckel aus Kunststoff, in die mit Zucker-Hefelösung getränkte Streifen aus Filtrierpapier gelegt wurden. Auf diese Unterlage legen die Tiere ihre Eier ab.

Zur Gewinnung einer größeren Anzahl von Eiern wurde eine

Ablege-Apparatur benutzt (ULRICH, 1953, modifiziert nach LANGLOTZ). Einige Tropfen hochprozentiger Essigsäure auf das Filterpapier geträufelt regen die Tiere zur besseren Ei-Ablage an. Normalerweise legen die Weibchen auf den so zubereiteten Unterlagen gut ab. In späteren Versuchen wurde nach der Methode von ULRICH außerdem eine Anzahl schmaler Filterstreifen auf die Unterlage gegeben. Die Fliegen streifen die Eier daran ab, so daß sie gut ausgerichtet liegen und besser abzunehmen und auszuzählen sind. Wegen der Eigenschaft der Fliegen, unter ungünstigen Bedingungen die Eier längere Zeit im Uterus zurückzuhalten, erwies es sich als notwendig, die Tiere erst einige Zeit unter wiederholtem Auswechseln der Ablegeschälchen legen zu lassen. Diese Eier wurden verworfen, da sie ein altersmäßig inhomogenes Gemisch darstellen. Optimale Ei-Ablage erfolgte erst in den Nachmittagsstunden.

Die für die Versuche verwendeten Eier stammten aus Gelegen, deren Ablegezeit den jeweiligen Versuchsbedingungen angepaßt war: Sollte die Bestrahlung im Ei-Alter von 1 1/2 Stunden erfolgen, wurden die Ablegeschälchen alle 30 Minuten ausgewechselt. Für kürzere Zwischenräume zwischen Ablage und Bestrahlung fand das Auswechseln alle 10 Minuten statt. Um die Fliegen während des häufigen Wechselns der Unterlage nicht am Ablegen zu stören, wurden die Eier bei nur schwachem Licht entnommen und die Fliegen in der übrigen Zeit völlig dunkel gehalten.

c) Zur Bestrahlung

Die so gewonnenen Eier wurden in mit feuchtem Filtierpapier ausgelegten Petrischälchen (feuchte Kammer) in einem Thermostaten bis zur Bestrahlung aufbewahrt. Für die Bestrahlung mit Dosen bis 3000r wurde eine Röntgen-Isovolt-Röhre der Firma Seifert verwendet (180 kV, 20 mA, 2 mm Al). Um die Bestrahlungsdauer nicht größer als 7 Minuten zu halten, wurde für höhere Dosen und für die Bestrahlung von Eiern im Alter von 30 Minuten eine im Institut von HEUSE (1953) gebaute Hochleistungs-Röntgenröhre verwendet

(65 kV, 1000 mA Röhrenstrom).

d) Zur Nachbehandlung der Eier

- 1) Die für die Schlüpfraten-Versuche bestimmten Eier verblieben nach dem Auszählen in einer feuchten Kammer bei 25°C im Thermostaten. 16 bis 20 Stunden nach der Ablage wurde die Zahl der zu früh geschlüpften Tiere ermittelt und 50 Stunden nach der Ablage die Gesamtzahl der Geschlüpften festgestellt.
- 2) Die für die histologischen Untersuchungen bestrahlten Eier verblieben ebenfalls bis zur Fixierung bei 25 °C im Thermostaten.
Die Fixierung erfolgte bei 50 °C mit einem modifizierten Gemisch nach KAHLE (37 ml Aqua dest., 32 ml Alkohol von 95 %, 27 ml 6 %iges Formol, 4 ml Eisessig). Zur langsamen Entwässerung wurden die Versuchsproben darauf durch einzelne Alkoholstufen bis zum absoluten Alkohol geführt. Es erwies sich als vorteilhaft, dem 70 %igen Alkohol einige Tropfen einer alkoholischen Lösung von Methylgrün zuzusetzen. Dadurch färbt sich das Ei oberflächlich an und ist bei der Einbettung in Paraffin leichter zu erkennen. Die Färbung verwäscht sich im Laufe der histologischen Aufarbeitung der Schnitte wieder.
Nachdem die Eier zur endgültigen Entwässerung in zweimal gewechseltem absoluten Alkohol geblieben waren, wurden sie nacheinander in Methylbenzoat, Benzol und Benzol-Paraffin überführt. Für die Einbettung in Paraffin wurde ein Gemisch aus hartem und weichem Paraffin verwendet. Um ein besseres Durchtränken der Eier zu ermöglichen und die Reste von Benzol zu entfernen, wurden drei Stufen von Paraffin durchlaufen.
Zur Färbung der 5 bis 7 μ dicken Schnitte kam vorwiegend Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN zur Anwendung

und für die cytologischen Untersuchungen die Feulgen-
sche Nuklearfärbung mit Gegenfärbung durch Methylgrün
(ROMEIS 1948). Die so aufgearbeiteten Drosophila-Eier
wurden nach der Einbettung in Kanadabalsam lichtmikros-
kopisch untersucht.

Die Embryonal-Entwicklung von Drosophila

Das etwa $0,45 \times 0,15$ mm große Ei von *Drosophila* ist bilateral-symmetrisch mit einer schwach konvexen Ventral- und konkaven Dorsalseite. Vorderer und hinterer Ei-Pol sind schon makroskopisch leicht zu unterscheiden, da sich am vorderen Pol zwei Filamente befinden, Ausläufer des Chorions mit großporigem, luftgefülltem Gewebe. Ein frisch abgelegtes Ei steckt mit dem hinteren Pol so weit in einem feuchten Medium, daß nur das vordere Ei-Viertel mit den Filamenten herausragt. Es wird angenommen, daß diese paarigen Chorionfortsetzungen eine besondere Funktion für die Versorgung des Eies mit Luft und Feuchtigkeit zu erfüllen haben (HINTON 1959).

Das reife unbefruchtete Ei ist sehr dotterreich und von der Dottermasse ganz erfüllt. Lediglich an der Oberfläche befindet sich eine dünne Plasma-Lage, die sich von dem Dotter deutlich abhebt und später bei der Blastodermbildung eine Rolle spielt. Von den das Ei umgebenden Hüllen ist die innere, die Dotterhaut, schwach ausgebildet und strukturlos (Keimhautblastem), während die äußere Hülle, das Chorion, wabenförmige Struktur hat.

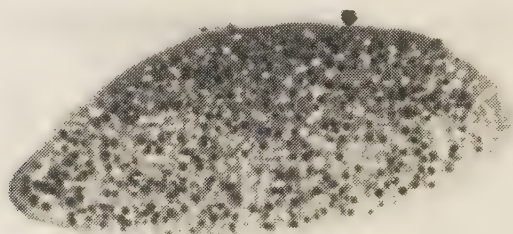


Abb.1: Längsschnitt durch ein *Drosophila*-Ei kurz nach der Ablage (360-fach).

Das Innere des Eies (Abb.1) besteht aus kleinen und großen Nährdotterkugeln, welche sich mit basischen Farbstoffen wie HEIDENHAIN stark blau-schwarz anfärben, ferner aus Fett-Tropfen, Körnchen und Schollen, zwischen denen sich ein protoplasmatisches Netzwerk ausdehnt. Dieses kann an einzelnen Gebieten, ähnlich wie an der Peripherie, größere Flächen einnehmen. So sind besonders die Furchungskerne im vorderen Eifünftel von einem dotterfreien Plasmahof umgeben. Ob die Vakuolen auf den Schnitten von einer Schrumpfung infolge der Fixierung herrühren, oder tatsächlich Zellsafträume sind, ist nicht genau festzustellen.

Die Befruchtung durch ein durch den vorderen Ei-Pol eingetretenes Spermium findet noch im Uterus statt; es wird jeweils nur ein Ei befruchtet, jenes nämlich, das gerade am Receptaculum seminis gelegen ist. Nach dem Eintritt des Spermiums oder mehrerer Spermien wird das Ei normalerweise abgelegt. Jedoch kann es unter ungünstigen Bedingungen, die im einzelnen noch nicht bekannt sind, auch noch längere Zeit im Uterus verbleiben, so daß die frühesten Stadien der Embryonalentwicklung noch im mütterlichen Organismus ablaufen. In diesen Fällen ist eine genaue Altersbestimmung der abgelegten Eier nicht möglich. Kommt es auf die genaue Kenntnis des Alters eines Eies an, so müssen erst mehrere Vorgelege abgewartet werden.

Bleibt ein Ei unbefruchtet, kann es auf dem histologischen Schnitt sehr leicht als solches identifiziert werden durch seine gleichmäßige Anfärbung mit basischen Farbstoffen.

Kaum ein anderer Organismus benötigt eine so kurze Zeit für den Ablauf einer Mitose wie der Embryo von Drosophila. Verschiedentlich wurde die Zeitdauer zwischen dem Beginn einer Mitose und dem Beginn der nächsten bestimmt (HUETTNER 1933, RABINOWITZ 1941a, 1941b, DEMEREC 1950). Sie ist stark temperaturabhängig und beträgt bei 23° bis 25°C 10 Minuten. Nach PAINTER (1940) läßt sich diese auffallend schnell ablaufende Mitose dadurch erklären, daß die zur Reduplikation

der Chromosomen notwendigen Aufbaustoffe schon in verwendbarer Form im Ei vorliegen. Das *Drosophila*-Ei besitzt einen großen Nährstoffvorrat im Dotter, der aus den 15 polyploiden Nährzellen stammt, welche bei der Bildung der Eizelle beteiligt waren. PAINTER nimmt daher an, daß die schnelle Bildung neuer Chromosomen eher in einer Vereinigung schon fertig vorliegenden Materiales vor sich geht als in einer komplizierten Synthese aus noch einfachen Bausteinen.

Die Verschmelzung von Ei- und S₂amenkern vollzieht sich ebenso wie die ersten Kernteilungen im vorderen zweiten Ei-Fünftel. Das Ei ist zu dieser Zeit 10 bis 20 Minuten alt. Der von einem Plasmahof umgebene Furchungskern teilt sich, wobei infolge des starken Dotterreichtums des Eies die Chromosomen färberisch schwer darzustellen sind; die Dottermasse nimmt den Farbstoff in viel stärkerem Maße auf als diese und überdeckt daher die schwächer angefärbten Teilungskerne. Auf den Schnitten ist ein Kern häufig nur dadurch zu lokalisieren, daß er in einer Zone dotterfreien Plasmas liegt, die sich wie eine Insel aus der stark gefärbten Umgebung heraushebt (Abb.2).

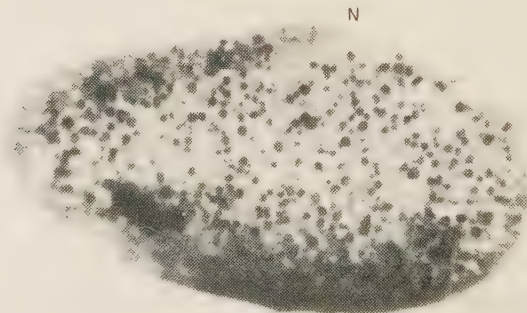


Abb.2: Längsschnitt durch ein 20 min altes Ei. Innerhalb einer Plasma-Insel ein sich teilender Kern (N). (400-fach)

Die ersten Kernteilungen werden nicht von einer Aufteilung des Plasmas begleitet, vielmehr entsteht als Folge der rasch aufeinanderfolgenden Mitosen ein Organismus, der als ein vielkerniges Syncytium zu bezeichnen ist. Dieses bleibt über längere Zeit erhalten (bis 2 Stunden nach der Ei-Ablage). Zwar bleiben die Plasmahöfe um die Kerne herum bestehen, aber es kommt noch nicht zur Bildung von Zellgrenzen.

Zunächst liegen die Kerne noch im zentralen Teil des Eies, inmitten der übrigen Plasmaeinschlüsse. Sie teilen sich auf dieser Stufe der Embryonalentwicklung alle gleichzeitig, so daß alle Kerne im gleichen Mitose-Stadium stehen.

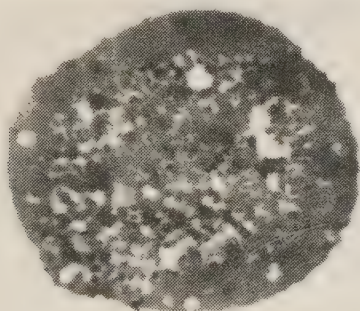


Abb. 3: Querschnitt durch ein Ei, 60 min nach der Ablage (420-fach).

Nach der 8. oder 9. Kernteilung verändert sich das histologische Bild stark: Die Kerne beginnen an die Peripherie des Eies zu wandern, immer noch umgeben von Plasmahöfen ohne besonders ausgebildete Abgrenzungen (Abb.3 und 4). Haben sie die Ei-Oberfläche erreicht, liegen sie vorerst noch weit auseinander (Abb.5). Erst im Laufe weiterer Mitosen rücken sie enger zusammen und bilden etwa nach der

12. Teilung des Stadium der Blastula. Damit hört auch die synchrone Teilung aller Kerne auf (DEMEREK 1950).

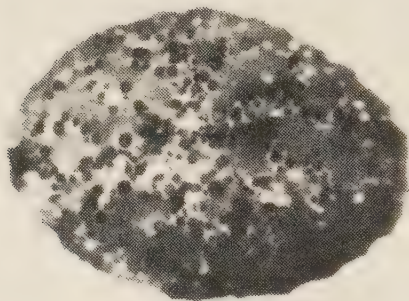


Abb.4: 75 min altes Drosophila-Ei
(420-fach)

Nach RABINOWITZ werden nach der 12. Kernteilung - das entspricht einem Ei-Alter von etwa 120 Minuten - statt der zu erwartenden 4096 Kerne nur 3200 bis 3500 gezählt. Diese Zahl bezieht sich aber nur auf die an der Peripherie liegenden Kerne. Es wandern jedoch nicht alle Eikerne an die Oberfläche; vielmehr bleibt ein Teil von ihnen innerhalb der zentralen Dottermasse zurück (RABINOWITZ 1941b). Diese werden als primäre Dotterkerne bezeichnet. Zu ihnen gesellen sich die sekundären Dotterkerne, die wieder von der Eiperipherie in das Zentrum zurückwandern.

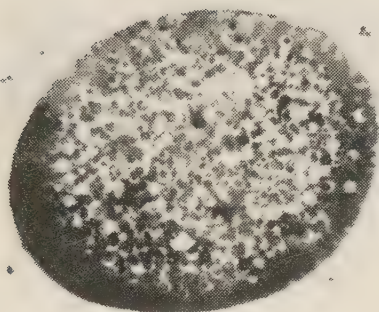


Abb. 5: 90 min altes Ei mit beginnendem Blastoderm (400-fach)

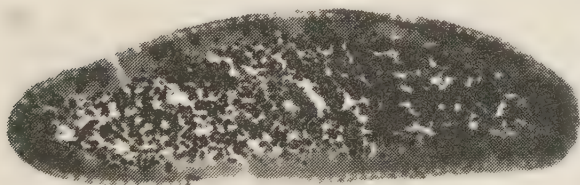


Abb. 6: Blastoderm-Stadium eines 120 min alten Eies (280-fach)

Daß der Synchronismus der Mitosen mit der Bildung der Blastula aufhört, hängt nach DEMEREC mit der Bildung von Zellmembranen zusammen, die jetzt auftreten und die unmittelbare Verbindung der Kerne untereinander unterbrechen (Abb. 7).



Abb.7: Beginn der Zellwandbildung 2 1/2 Stunden nach der Eiablage (250-fach).

Es entsteht eine dichte Kette schmaler Zellen mit länglichen Kernen, in denen 1 bis 2 Nukleoli sichtbar werden. Ein *Drosophila*-Ei im Alter von 2 1/2 Stunden zeigt eine lückenlose Zellschicht an der Oberfläche, an deren Außenseite die Kerne als dunkel gefärbte Strukturen hervortreten. Die Kerne mit den Plasma-Inseln sind durch schmale Furchen, später Zellwände, voneinander getrennt. Diese können nur so schwach sichtbar sein, daß die kernlose innere Seite der Zellen, als Ganzes betrachtet, wie eine besondere kernfreie Plasmazone erscheint (Abb.8). Nur auf sehr günstig getroffenen Schnitten kann die Furche bis an das Gebiet der zentralen Dottermasse verfolgt werden. Mit dem Alter von 3 Stunden ist die Bildung des Blastoderms abgeschlossen. Die Zellwände sind deutlich sichtbar; der Embryo ist zum vielzelligen Organismus geworden.

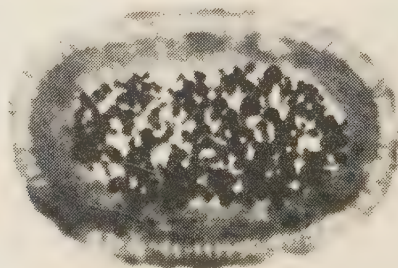


Abb.8: 2 1/2 Std. altes Ei. Die zentrale Dottermasse ist umgeben von einer Plasma-Lage (420-fach).

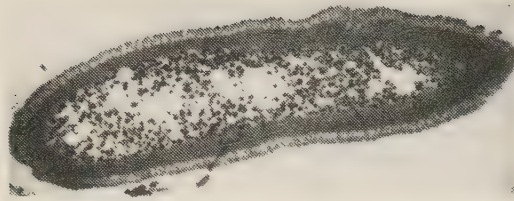


Abb.9: Längsschnitt durch ein 3 Stunden altes Drosophila-Ei. Die Kerne teilen sich. Beginn der Gastrulation. (200-fach)

Ungefähr im Ei-Alter von 3 Stunden 20 Minuten beginnen die Teilungsvorgänge, die im weiteren zur Gastrulation und damit zu einer Differenzierung des embryonalen Gewebes führen (Abb.9). Auf Längsschnitten von Eiern dieses Alters ist eine faltige Auflockerung im dichten Zellverband an der Ventralseite des Eies zu sehen, hervorgerufen durch starke Zellteilungen in dieser Region. Bald darauf bildet sich die ventrale Längsfurche (Abb.10), die auf günstigen Querschnitten als ein Spalt zu sehen ist. Das eingestülpte Zellmaterial vermehrt sich unter fortlaufender Teilung; die Zellen unterscheiden sich von denen der Dorsalseite in Form und Größe. Nachdem sich die ventrale Einstülpung weiter vertieft und vom äußeren Zellmantel abgetrennt hat, ist die Gastrulation abgeschlossen. Nach DEMEREC wird etwa 30 % des ursprünglichen Blastodermmaterials zur Bildung der inneren Organe verwendet; in dieser Angabe sind allerdings auch die Zellen enthalten, die den ektodermalen Vorder- und Enddarm bilden sowie die Zellen, die beim 4 1/2 Stunden alten Ei aus der Dorsalfalte zur Bildung des Mesoderms einwandern.

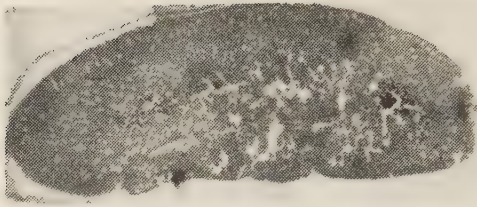


Abb.10: 3 1/2 bis 3 3/4 Stunden alter Embryo, fortgeschrittene Gastrulation (250-fach).

5 1/2 Stunden nach der Ablage sind am Embryo Stomodeum und Proctodeum erkennbar, ihre Anlage ist im Alter von 6 Stunden tief eingesenkt; der Embryo besitzt jetzt bereits einen primitiven Darm. Es beginnt die rege Teilung der Neuroblasten; typisch für einen 7 Stunden alten Embryo.

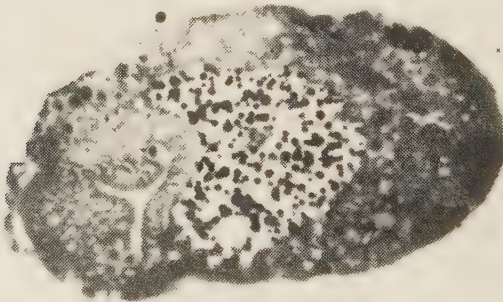


Abb.11: Schräg angeschnittene Gastrula eines 4 1/2 Std. alten Eies (320-fach).

Die ersten Anzeichen der ektodermalen Gehirnlobi werden sichtbar. Diese vergrößern sich nun fortlaufend. Ebenso fällt in dieses Entwicklungsstadium die Einstülpung der Tracheen, die allerdings nur selten deutlich genug auf Schnitten zu erkennen sind.

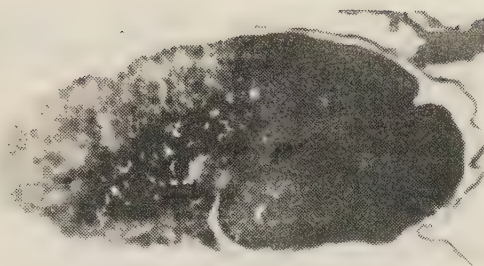


Abb.12: 4 1/2 Stunden alter Embryo (320-fach).

Der 8 Stunden alte Embryo besitzt bereits Speicheldrüsen, die als Einsenkungen des Ektoderms entstanden sind und mit zunehmendem Alter des Embryos länger werden. Die ersten Anzeichen der Segmentierung von Kopf und Rumpf werden sichtbar, ebenso Muskelansätze. 10 Stunden nach der Ei-Ablage sind die Gonaden als kompakte Zellanhäufungen sichtbar. Die Schenkel der vorderen und hinteren Mitteldarmanlage verlängern sich und umwachsen den Dotter. Im Embryo von 12 Stunden erscheint der Mitteldarm als sackartige Erweiterung und der schon chitinöse Proventriculus hebt sich durch seine starke Anfärbung deutlich von den im Schnitt getroffenen Darmschlingen ab.

Von diesem Alter an ist es schwer, an Hand des histologischen Schnittes das genaue Alter des Embryos zu bestimmen. Im weiteren Verlauf der Entwicklung vergrößern sich die Gehirnlobi stark und das Bauchmark unterscheidet sich klar als heller gefärbter Strang von den anderen Organen. Pharynx und Proventrikel werden größer und die stark färbbare Dottermasse innerhalb der Darmschlingen nimmt an Menge ab.

Die Speicheldrüsen haben sich verlängert; sie sind nach DEMEREC bereits bei einem 12 Stunden alten Embryo in Tätigkeit. Ihr Wachstum beruht nicht auf Zellteilung, sondern auf der Vergrößerung der vorhandenen Zellen, die häufig von Vakuolen erfüllt sind.

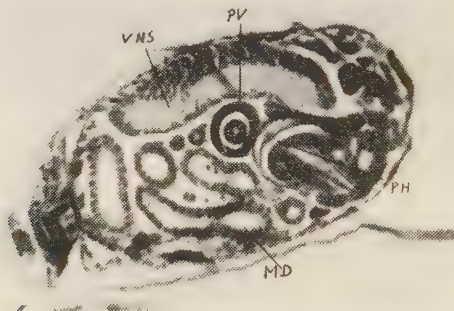


Abb. 13: 14 Std. alter Embryo, seitl. Längsschnitt (200-fach).
MD Mitteldarm, PH Pharynx, PV Proventriculus,
VNS Ventrales Nervensystem.



Abb. 14: Embryo von Drosophila im Alter von 16 Std.
Horizontalschnitt in Höhe des ventralen
Nervensystems (250-fach).

Beim 15 bis 17 Stunden alten Embryo verdichtet sich das Gehirn, im ventralen Nervensystem werden Nervenfasern

sichtbar, der Darm verlängert sich durch Größenwachstum und die Pharynxmuskulatur ist kräftig ausgebildet (Abb. 13 bis 16). Bis zum Schlüpfen verändert sich der Embryo nicht mehr stark. Die wesentlichen Organe sind bereits ausgebildet, sie erfahren nur noch quantitative Veränderungen. Der in den Darmschlingen eingeschlossene Dotter ist nahezu verbraucht. Die weiteren Veränderungen können nur am lebenden Objekt verfolgt werden, die Beweglichkeit nimmt zu, besonders die Mundwerkzeuge sind häufig in Bewegung. Mit 18 bis 19 Stunden haben sich die Tracheen mit Luft gefüllt und der ganze Embryo dehnt sich. 22 Stunden nach der Ei-Ablage ist die Embryonalentwicklung von *Drosophila* normalerweise abgeschlossen und die Larve verläßt die Ei-Hülle.

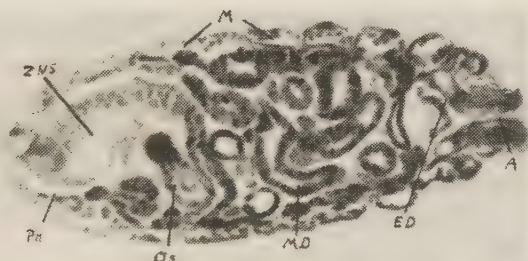


Abb.15: 17 Std.alter Embryo im Längsschnitt (250-fach).
A Anus, ED Enddarm, M Muskeln, MD Mitteldarm,
Ös Ösophagus, PH Pharynx, ZNS Zentralnerven-
system.

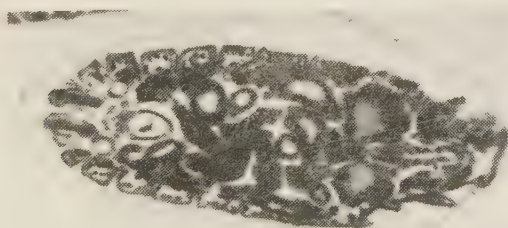


Abb.16: Horizontalschnitt durch einen 18 bis 20 Std.
alten Embryo (180-fach).

Bestimmungen der Schlüpfraten

Aus der Anatomie des Drosophila-Weibchens ergibt sich, daß immer nur ein Ei am Receptaculum seminis vorbeigleitet und dabei befruchtet wird. Danach erfolgt seine Ablage. Werden jedoch, wie eingangs geschildert, die Eier im Uterus längere Zeit retiniert, so werden diese Embryonen früher schlüpfen als nach den Berechnungen zu erwarten war. Sie sind für die Bestrahlungsversuche ungeeignet, da ihr Entwicklungszustand unbekannt ist, der zur Zeit der Bestrahlung vorliegt.

Eine weitere Möglichkeit für eine Verfälschung der Versuchsergebnisse liegt in der Eigenschaft der Dipteren, daß sie auf Grund irgendwelcher Störungen zeitweilig sehr viele Eier auf einmal ablegen. Diese sind nicht befruchtet. Häufig kann man sie daran erkennen, daß sie nicht einzeln liegen, sondern übereinander geschichtet sind; in diesem Fall können sie vor Beginn des Versuches entfernt werden. Aber es gibt kein sicheres Mittel, alle dabei zu erfassen.

Schließlich gibt es bei allen Organismen immer einen Prozentsatz kranker Mitglieder, die ihre Entwicklung vorzeitig abbrechen. Diese würden in den vorliegenden Versuchen als strahlengeschädigte Tiere gezählt werden und damit das Versuchsergebnis verfälschen.

Um den prozentualen Anteil dieser für die Versuche nicht geeigneten Eier zu erfassen, wurden die Schlüpfraten der normalen, unbehandelten Eier in Kontrollversuchen bestimmt. Dabei kann die Gruppe der retinierten, also älteren Eier ermittelt werden durch die Auszählung der zu früh geschlüpften Larven. Die unbefruchteten Eier sowie die kranken Organismen gehen aus der Zahl der Nichtgeschlüpften hervor.

Wie schon früher erwähnt wurde, zeigt es sich, daß durch längere Vorgelege der Anteil der retinierten Eier stark

eingeschränkt werden kann. Um die restlichen auch zu erfassen, wurden die vorzeitig geschlüpften Tiere ermittelt.

Es ist wichtig, diese Zahl der zu früh geschlüpften Larven möglichst klein zu halten, da sie nicht nur allgemein zur größeren Inhomogenität des Versuchsmaterials beitragen, sondern insbesondere in Versuchen mit ionisierenden Strahlen eine grobe Verfälschung der Resultate herbeiführen. Wie an späterer Stelle eingehender besprochen wird, ändert sich die Strahlensensibilität embryonalen Gewebes stark mit dessen Entwicklungszustand. Allgemein gilt, daß mit zunehmendem Alter der Organismus die Bestrahlung besser verträgt als zu einem früheren Zeitpunkt der Entwicklung. Dieses bedeutet für die Versuche, daß bei einem hohen Anteil retinierter Eier als Endresultat nach der Bestrahlung eine stärkere Resistenz herauskommt, als der Wirklichkeit entspricht.

In der Tabelle 1 ist ein Schlüpfratenversuch aufgenommen, für den keine Vorgelege abgewartet worden waren.

Anzahl der Eier	Uhrzeit	Std. nach Ablage	Geschlüpfte
1378	12 ⁰⁰	0	0
	24 ⁰⁰	12	0
	3 ⁰⁰	15	8
	4 ⁰⁰	16	27
	5 ⁰⁰	17	59
	6 ⁰⁰	18	21
	7 ⁰⁰	19	83
	8 ⁰⁰	20	64
			262
	24 ⁰⁰	36	1069

Tab.1: Schlüpfrate ohne Vorgelege
 Vorgeschlüpfte: 19 %
 Nichtgeschlüpfte: 3,5 %

In stündlichen Auszählungen, begonnen 15 Stunden nach der Ablage, wurde die Zahl der geschlüpften Larven ermittelt. Der Versuch zeigt, daß etwa 20 % der Eier bereits vor dem errechneten Zeitpunkt die Eihülle verlassen hatten.

Wie stark sich dieser Prozentsatz verringert, wenn Vorlege abgewartet werden, geht aus der Tabelle 2 hervor.

Anzahl der Eier	Uhrzeit	Std. nach Ablage	Geschlüpfte
1209	14 ⁰⁰	0	0
	2 ⁰⁰	12	0
	6 ⁰⁰	16	0
	7 ⁰⁰	17	3
	8 ⁰⁰	18	7
	9 ⁰⁰	19	5
	10 ⁰⁰	20	<u>11</u>
			26
	20 ⁰⁰	36	1144

Tab. 2: Schlüpftrate nach abgewartetem Vorlege.

Vorgeschlüpfte: 2 %

Nichtgeschlüpfte: 3,4%

Die Anzahl der unbestrahlten nichtschlüpfenden Eier, d.h. die normale Sterblichkeit des Versuchsmaterials, variiert von Versuch zu Versuch. Sie liegt zwischen 2,1 % und 3,4 % der Gesamtzahl der Eier, wenn nur die nach guten Vorgelegen abgelegten Eier benutzt werden.

Zur Homogenität der Drosophila-Eier

Während im Kapitel über die Bestimmung der Schlüpftrate auf eine Verfälschung des Ergebnisses durch zu weit in der Entwicklung fortgeschrittene Eier eingegangen wurde, soll hier eine Frage behandelt werden, die mit dem Entwicklungs-Fortgang verbunden ist.

Angenommen, es wäre möglich, mit völlig gleichartigen Eiern von genau demselben Entwicklungszustand zu Beginn des Versuches diesen durchzuführen, so besteht doch die Möglichkeit, daß es im Laufe der Weiterentwicklung zu einer unterschiedlichen Geschwindigkeit kommt. Diese würde sich so ausdrücken, daß die einen Eier in der Entwicklung zurückbleiben, während andere die einzelnen Stadien schneller durchlaufen. Das würde für die Bestrahlungs-Versuche bedeuten, es sind nicht alle zum Zeitpunkt der Bestrahlung in dem angenommenen Alter von $1\frac{1}{2} \pm \frac{1}{4}$ Stunden. Eine starke Beteiligung jüngerer oder älterer Eier am Versuch ändert aber die Strahlensensibilität in großem Umfang.

Es wurde daher diese Frage an unbestrahlten Eiern geprüft. Der Schlüpfraten-Test gibt darüber keine Auskunft, da in ihm nur das Endresultat der Entwicklung festgehalten wird. Auch ist es wegen der wenig durchsichtigen Ei-Hülle von Drosophila nicht möglich, morphologisch das Entwicklungsalter zu erkennen. Diese Frage muß daher am histologischen Schnitt untersucht werden.

Als ein gut definierbares Entwicklungsstadium wurde das des $2\frac{1}{2}$ Stunden altes Eies ausgesucht, welches sich also auf Stadium III der Tabelle 3 befindet. Natürlich wäre es günstiger, die Eier auf dem Entwicklungsstand zu vergleichen, den sie bei der Bestrahlung erreicht haben, das Stadium I. Dagegen spricht aber, daß eine genaue

Identifizierung evtl. vorhandener jüngerer Eier schwer durchzuführen ist, andererseits das 1 1/2-Stunden-Ei nicht immer mit Bestimmtheit von einem 2 Stunden alten zu unterscheiden ist, wenn es sich um einen ungünstig getroffenen Schnitt handelt. Aus ähnlichen Überlegungen heraus wurde auch nicht ein noch älteres Stadium für diese Untersuchung ausgewählt.

	S t a d i e n									
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Alter der Kontr. (Std)	1,5	2	2,5	3	3,5	4	4,5	5	6	7

Tab. 3: Einteilung des Alters der Kontrollen in Stadien I bis X.

In fünf Versuchen von je etwa 600 Eiern wurde die Verteilung der im Alter von 2 1/2 Stunden fixierten Embryonen auf die Entwicklungsstadien I bis VII untersucht. Um auszuscheiden, daß nur einmal unter vielleicht besonders günstigen Ablegebedingungen gearbeitet wurde, verteilten sich die Versuche auf verschiedene Tage und damit stammen die einzelnen Proben von verschiedenen Imagines.

Nach mehreren verworfenen Vorgelegen wurden die Eier 2 1/2 Stunden nach der Ablage bei 25°C gehalten und dann fixiert. An Hand der histologischen Schnitte wurden die Eier auf ihr Entwicklungsstadium hin untersucht. Das Ergebnis ist in der Figur und der dazugehörigen Tabelle 4 abgebildet.

Rechnet man den Versuch Nr. 5 (Tab. 4) nicht mit, da er schon am frühen Vormittag stattfand und das Vorgelege zu kurz abgewartet wurde, so entsprechen gut 92 % der Eier dem erwarteten Alter von 2 1/2 bis 3 Stunden.

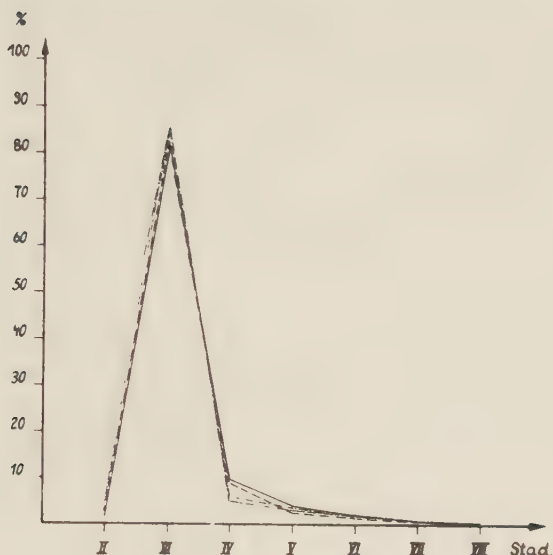


Fig. 1: Prozentuale Verteilung unbestrahlter Drosophila-Eier auf einzelne Stadien bei einem Abtötungs-Alter der Eier von 2 1/2 Stunden. Ordinate: Anzahl der Eier in %. Abszisse: Stadien der Entwicklung.

Versuch	S t a d i e n							
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
1	-	1,6	82,0	9,5	4,3	2,0	0,4	0,2
2	-	2,7	84,0	9,0	2,7	1,4	-	-
3	-	2,6	85,0	5,6	3,5	1,6	0,8	-
4	-	3,0	88,0	5,0	2,5	0,5	-	-
5	-	0,5	78,0	10,0	4,5	5,0	-	-

Tab. 4: Die der Fig. 1 zugrundeliegenden Werte (unbefruchtete Eier nicht mit aufgeführt)

Da die Eier über einen Zeitraum von einer halben Stunde gesammelt wurden, ist die Zahl der Embryonen auf Stadium III nicht höher, sondern eine Anzahl Eier steht schon auf der Stufe IV.

Eine mit Versuch Nr. 5 gleichzeitig durchgeführte Bestimmung der Schlüpftrate ergab 11 % Vorgeschlüpfte. Damit lassen sich die relativ niedrigen Werte in den Stadien III und IV erklären.

Daß die Werte für die Stadien III und IV nicht noch größer sind, sondern ein gewisser Prozentsatz der Eier in jüngeren oder späteren Stadien stehen, läßt sich für die älteren Eier durch Retinierte erklären. Zum anderen ist der Prozentsatz auf jüngeren Stadien durch die biologische Variabilität zu erklären. Bekanntlich gibt es bei allen lebenden Versuchsobjekten nie eine zu 100 % gleichartige Reaktion, da die Lebens- und Entwicklungsbedingungen nie völlig gleich sind. Die einzelnen Daten schwanken immer um einen Mittelwert; sie werden nach der Richtung gleichsinniger Faktoren - also nach beiden Seiten des Maximums - seltener.

Eine jahreszeitlich bedingte Schwankung in der Entwicklungsgeschwindigkeit bei sonst gleichen Bedingungen konnte nicht festgestellt werden.

Die Verteilung der Eier auf einzelne
Entwicklungsstadien bei unterschiedlichen
Bestrahlungsdosen

Als Resultat einer Schlüpfraten-Bestimmung von röntgenbestrahlten Drosophila-Eiern erhält man zwei Werte, einen für die Anzahl der geschlüpften Larven und einen zweiten für die nicht bis zur Larve entwickelten Embryonen. Diese Resultate sind abhängig von dem Alter der Eier bei der Bestrahlung und von der angewandten Dosis. Eine Aussage über die abgestorbenen Embryonen ist nicht darin enthalten.

Die vorliegenden Versuche befassen sich mit der Gruppe abgestorbener Eier, die unter den Begriff "Frühtod" fallen. Es wurde mit Dosen bestrahlt, die nicht unter 250r liegen. Daher kann angenommen werden, daß ein hoher Prozentsatz der Eier zu stark geschädigt wurde, um noch die Schlüpfreife zu erlangen.

Das Alter der Eier zur Zeit der Bestrahlung betrug $1,5 \pm 0,25$ Stunden, bezogen auf das Alter 0 Stunden zum Zeitpunkt der Ei-Ablage. Es wurde nach verschiedenen langen Zeiträumen nach der Bestrahlung fixiert und die Verteilung der Eier auf die Stadien untersucht.

Wird die Versuchsprobe 1 Stunde nach der Bestrahlung durch das Fixierungsmittel abgetötet, so ergibt die histologische Untersuchung eine prozentuale Verteilung, wie sie Figur 2 zeigt. Die Einteilung in die Stadien I bis X ist auf unbestrahlte Kontroll-Eier bezogen (Tabelle 3).

Während die unbestrahlten Eier zu 97 % das Stadium III erreicht haben, entwickelten sich infolge der Bestrahlung die Embryonen wesentlich langsamer. Deutlich erkennbar ist bei allen angewandten Dosen eine starke Ansammlung im Stadium I. Das bedeutet, diese Embryonen haben ihre Entwicklung unter der Bestrahlung abgebrochen und sind entweder abgestorben oder in der Entwicklung gehemmt.

In Abhängigkeit von der Dosis steigt der prozentuale Anteil

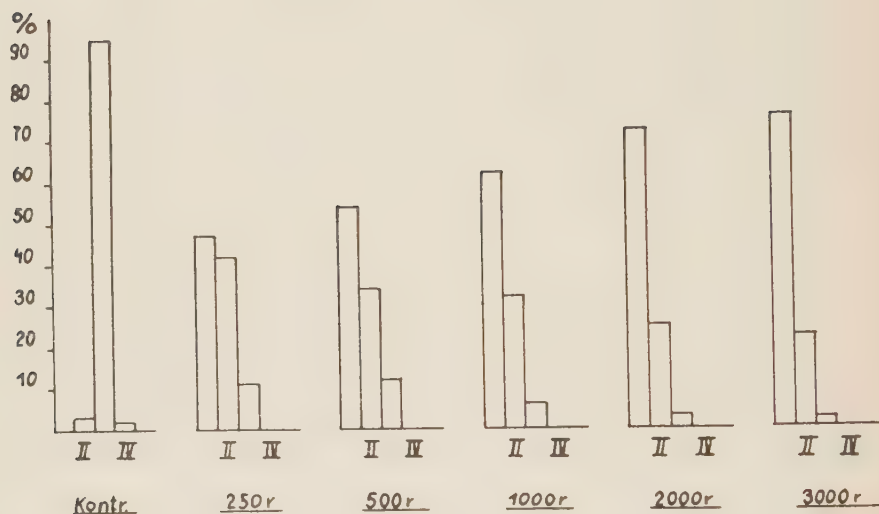


Fig. 2: Prozentuale Verteilung im Alter von 1 1/2 Std. bestrahlter Drosophila-Eier auf einzelne Stadien.

Fixierungsalter: 2 1/2 Std.

Ordinate: Anteil der Eier in Prozent

Abszisse: Entwicklungsstadien, bezogen auf Tab. 3

Etwa 500 Eier je Versuchsgruppe

der im 1 1/2-Stunden-Stadium verbliebenen Eier an. Während es nach einer Dosis von 250r etwa die Hälfte aller Eier betrifft, sind es nach 3000r rund 75 %. Das Stadium III, das dem tatsächlichen Alter der Eier entspricht, wurde nur von 10 % nach den geringeren Dosen, von nur 6 % nach den hohen Dosen erreicht.

Es sieht so aus, als hätte über die Hälfte der Individuen infolge der Bestrahlung die Fähigkeit zur Fortsetzung ihrer Entwicklung verloren. Daß diese Annahme zumindest teilweise richtig ist, geht aus der nächsten Figur hervor.

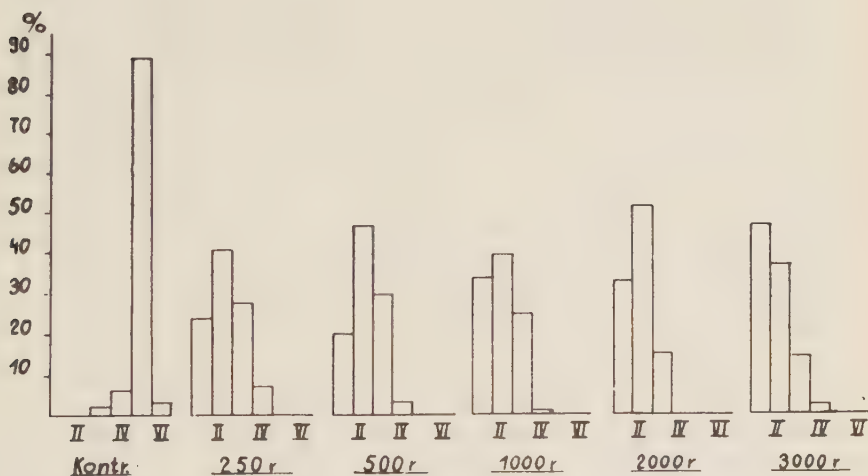


Fig. 3: Prozentuale Verteilung im Alter von 1 1/2 Stunden bestrahlter Eier.
Fixierungsalter: 3 1/2 Stunden

Hier fand die Fixierung erst 3 1/2 Stunden nach der Ablage statt; es liegt also zwischen Bestrahlung und Fixierung ein Zeitraum von 2 Stunden. Das Zahlenverhältnis der Stadien hat sich verschoben. Etwa die Hälfte der in Figur 2 hoch im Bestrahlungsalter stehenden Eier konnte die Entwicklung wieder aufnehmen. Das bedeutet, daß während der zwei Stunden, die seit der Einwirkung der Röntgenstrahlen vergangen sind, sich ein Teil der Embryonen von der Schädigung soweit erholt hat, daß zumindest der unmittelbare Schock überwunden werden konnte. Inwieweit es sich um eine tatsächliche Erholung handelt, muß in weiteren Versuchen geklärt werden.

Aus der Figur 3 geht weiter hervor, daß die Mehrzahl der Embryonen das Stadium II erreicht hat, eine Entwicklungsstufe, die 2 1/2 Stunden hinter dem eigentlichen Alter der Eier zurückliegt. Ältere Stadien als dem 2 1/2 Stunden alten entspricht, sind selten vertreten, und die Stufe IV wurde nicht einmal von den mit 250r bestrahlten Eiern erreicht.

Falls unter den erhaltenen Individuen solche sind, die noch die Fähigkeit zur weiteren Fortsetzung ihrer Entwicklung haben, muß die Zeit zwischen Bestrahlung und Fixierung verlängert werden; in dem der Figur 3 zugrundeliegenden Versuch ist sie zu kurz. Es muß dabei immer berücksichtigt werden, daß es sich um Eier handelt, die einer starken Strahlenbelastung ausgesetzt waren und deren Weiterentwicklung dadurch erschwert ist. Das Verteilungsspektrum der Embryonen zieht sich weiter auseinander, wenn mit der Abtötung der Eier durch das Fixierungsmittel noch länger gewartet wird. Die in der Figur 4 aufgeführten Eier verblieben nach der Bestrahlung noch 4 1/2 Stunden im Thermostaten zur Fortsetzung ihrer Entwicklung. Zur Zeit der Fixierung waren diese Proben demnach bereits 6 Stunden alt. In dieser Zeit erreichten 85 % der Kontrolltiere die Entwicklungsstufe IX (3 % davon entsprachen bereits einem Alter von 7 Stunden). Die restlichen 15 % verteilen sich auf die Stadien VII und

VIII, während 1 % offenbar nicht lebensfähig ist.

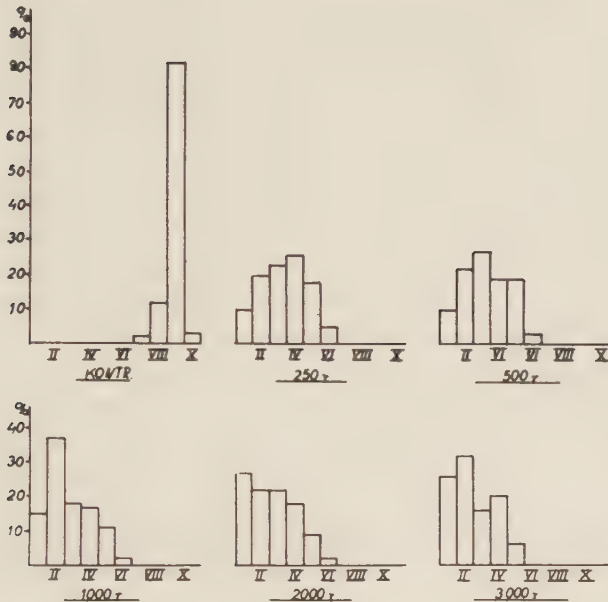


Fig. 4: Prozentuale Verteilung im Alter von 1 1/2 Stunden bestrahlter Eier bei einer Fixierung im Ei-Alter von 6 Stunden auf die einzelnen Stadien.

Bei den Bestrahlten hat sich die Verteilung gegenüber den Versuchen der Figur 3 stark verändert. Zwar erreicht keines der Eier das Stadium, welches seinem Alter entspricht. Vielmehr sind auch die am weitesten in der Entwicklung fortgeschrittenen Embryonen noch 2 1/2 Stunden hinter den Kontrollen zurück. Aber wiederum etwa 50 % der Eier, die in Figur 3 noch unter I zu finden sind, haben die Entwicklung wieder aufgenommen.

Das gilt allerdings nicht für die Gruppen, die mit Dosen von 2000r und 3000r bestrahlt worden waren. Weiter hat die Anhäufung der Eier in dem Stadium II gegenüber der Figur 3 stark nachgelassen. Das wird erklärlich, wenn man berücksichtigt, daß den Embryonen doppelt soviel Zeit nach der Bestrahlung gegeben wurde wie denen der Figur 3. Damit blieb solchen Eiern, die zwar nicht definitiv geschädigt, jedoch in der Entwicklung stark gehemmt waren, mehr Zeit zur Erholung.

In den 2 1/2 Stunden, die seit der Bestrahlung vergangen sind, änderte sich aber nicht nur der prozentuale Anteil an den Stadien I und II im Vergleich zu den Versuchen der Figur 3, sondern es ist auch eine deutliche Verschiebung innerhalb der älteren Stadien zu bemerken: Ein wesentlich höherer Prozentsatz hat die Stufe IV erreicht, das Stadium des zellig gegliederten Blastoderms.

Auffällig ist es, daß keines der Eier in der Entwicklung weiter als bis zur Phase VI gelangt ist, d.h. die Stadien VII bis IX sind nicht vertreten. Ist als Ursache dafür die zu kurze Zeitspanne bis zur Fixierung anzusehen, oder liegt der Grund in einer entscheidenden Hemmung, die bei der jetzt notwendigen Differenzierung des Embryos auftritt ?

In einer weiteren Untersuchungs-Serie wurden die bestrahlten Eier zu einem noch späteren Zeitpunkt, 7 Stunden nach der Ei-Ablage fixiert; es ergab sich eine Verteilung, wie sie Figur 5 zeigt. Auch hier ist die Rubrik VI nicht mehr besetzt als in Figur 4. Lediglich von den mit 250r bestrahlten Eiern hatten 20 % noch die Fähigkeit, sich bis zur abgeschlossenen Blastula und darüber hinaus zu entwickeln. Alle höheren Bestrahlungsdosen rufen einen Entwicklungsstillstand hervor, der spätestens mit der Ausbildung der frühen Gastrula eintritt.

Dagegen hat sich das Zahlenverhältnis der unter I bis IV angeführten Eier im Vergleich zu Figur 4 verschoben. Also

konnten weitere Embryonen den Strahlenschaden soweit überwinden, daß z.B. in der mit 250r bestrahlten Gruppe nur noch 16 % der Eier auf den Stufen I und II verblieben sind; in der Figur 4 sind es noch 30 %.

Auch die Maxima der einzelnen Gruppen aus der Figur 5 liegen weiter bei älteren Stadien im Vergleich zu der vorhergehenden Versuchsserie.

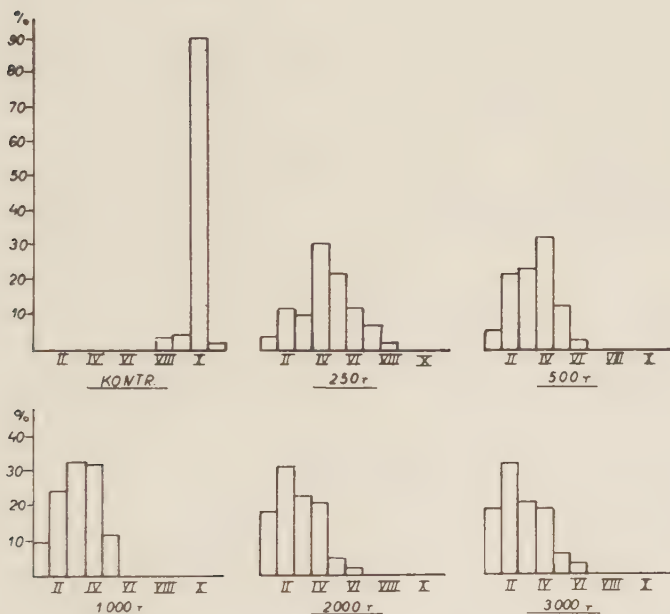


Fig.5: Prozentuale Verteilung im Alter von 1 1/2 Std. bestrahlter Eier bei einer Fixierung im Ei-Alter von 7 Std. auf einzelne Entwicklungsstadien.

Bisher konnte bei den angeführten Versuchen festgestellt werden, daß mit Anwachsen des Zeitraumes zwischen der Bestrahlung und der Fixierung einerseits die Zahl der sich weiterentwickelnden Individuen zunahm, andererseits auch die Zahl der Embryonen anstieg, welche die Blastula voll ausbilden und mit der Gastrulation beginnen.

Dieses führt zu der Frage, ob sich das Verteilungsspektrum noch weiter ausdehnt, wenn den Embryonen nur genügend Zeit dafür gelassen wird. Für die Beantwortung dieser Frage muß der Zeitraum bis zur Fixierung wesentlich länger sein. Dabei ist es nicht zu erwarten, daß die Schädigung mit Dosen wieder rückgängig gemacht werden kann, die höher als 250r liegen.

Eine Schwierigkeit taucht aber auf, wenn die Eier nach der Bestrahlung noch sehr lange unter normalen Entwicklungsbedingungen gehalten werden: Die histologische Bestimmung der Entwicklungsstadien ist außerordentlich viel schwieriger als bei einem früher gelegenen Zeitpunkt der Fixierung. Die geschädigten Embryonen sind nicht normal entwickelt, das Gewebe zum Teil schon zersetzt und die Möglichkeit einer fehlerhaften Bestimmung ist sehr groß. Aus diesem Grunde wurde einmal 18 Stunden, in einem weiteren Versuch 22 Stunden nach der Ei-Ablage fixiert. Die Versuche mit einer wesentlich später gelegenen Fixierungszeit (40 Stunden) mußten verworfen werden, da sich das bestrahlte Gewebe zu stark verändert hatte, so daß eine Auswertung der Präparate unmöglich war. Aus dem gleichen Grunde wurde bei der Auszählung der Stadien keine Einteilung in die Gruppen I bis X vorgenommen, sondern es wurde nur bestimmt, welche Embryonen sich bis zur frühen Gastrula entwickelt hatten.

Den Versuchsergebnissen der Tabelle V liegen je 1100 Eier zugrunde. Gegenüber den Werten aus der Figur 5 ist kein wesentlicher Unterschied festzustellen. Es scheint, als würden die Embryonen, die einmal das Stadium V und VI überschritten haben, sich auch weiter entwickeln können.

Dosis (r)	Alter z.Zt. d.Fixierung (Std.)	S T A D I E N			%
		Jünger als Blastula	Älter als Blastula	Älter als Gastrula	
-	18	1,5	2,5	96	-
250	18	25,0	26,0	21	28
500	22	57,0	13,0	10	20

Tab.V: Prozentuale Verteilung im Alter von 1 1/2 Stunden bestrahlter Eier.

Der prozentuale Anteil verändert sich lediglich mit der Größe der angewandten Dosis. Unter den histologisch stark veränderten Eiern befinden sich sehr viele vor dem Gastrula-Stadium abgestorbene Embryonen, nur ihr Gewebe ist schon so stark zersetzt, daß sie nicht mit Sicherheit eingeordnet werden können.

Man kann also sagen, daß auch bei einer sehr viel später gelegenen Fixierungszeit nicht mehr Embryonen den gesetzten Strahlenschaden überwinden können als in den Versuchen vorher. Die Individuen, die sich 5 1/2 Stunden nach der Bestrahlung über die frühe Gastrula entwickeln konnten, sind auch in der Lage, die Entwicklung weiter fortzusetzen.

Da eine weitere stufenweise Ausdehnung der Zeit zwischen der Bestrahlung und Fixierung nicht durchgeführt werden konnte, ist es nicht möglich, eine Aussage darüber zu machen, ob sich die am weitesten fortgeschrittenen Embryonen zu einem wesentlich später gelegenen Zeitpunkt noch weiter differenzieren konnten.

Gegen diese Annahme spricht aber das Ergebnis der gleichzeitig durchgeführten Schlüpfzeiten-Bestimmungen. Von den mit 250r bestrahlten Embryonen schlüpften nach 50 Stunden 22 %, das entspricht etwa den Embryonen, die in den Versuchen der Figur 5 am weitesten entwickelt waren.

Da der Spättod morphologisch an einer Dunkelfärbung der Eier zu erkennen ist, konnte gleichzeitig mit der Schlüpf-rate auch die Zahl der unter den Begriff Spättod fallenden Tiere ermittelt werden. Sie liegt nach einer Dosis von 250r bei 10 bis 12 %. Das bedeutet, es hat sich trotz des längeren Zeitraumes für die Erholung nicht noch ein weiterer Teil der Eier bis zur schlüpfreifen, aber nicht mehr schlüpfenden Larve entwickelt.

Über den "Soforttod" der Drosophila-Eier nach Röntgenbestrahlung

Unter "Soforttod" der bestrahlten Eier ist zu verstehen, daß diese noch zur Zeit der Bestrahlung oder unmittelbar darauf absterben; die Einwirkung der Strahlen ist so stark, daß die Eier sich nicht mehr davon erholen können.

Es wäre ungenau, unter die sofort abgestorbenen Eier nur solche zu rechnen, die bei der histologischen Analyse auf dem Stadium I angetroffen werden. Während der Bestrahlung liegt bestimmt eine Anzahl Eier im Stadium II vor, da sich einerseits die Sammelzeit über eine halbe Stunde erstreckt, zum anderen auch aus der Dauer der Bestrahlung eine gewisse zeitliche Verschiebung resultiert.

a) Bestrahlung 1 1/2 Stunden alter Eier.

Die im vorhergehenden Kapitel beschriebenen Versuche zeigen, daß die Anzahl der in der Phase I verbliebenen Eier nicht konstant bleibt, sofern zu unterschiedlichen Zeiten nach der Bestrahlung fixiert wird. In der Kurve (Figur 6) sind die Werte der Stadien I und II aus den Figuren 1 bis 4 des letzten Kapitels noch einmal zusammengestellt. Daraus geht hervor, daß, je später die Fixierung nach der Bestrahlung vorgenommen wird, desto weniger Eier auf den Stadien I und II stehengeblieben sind. Die Kurve zeigt weiter, daß die Erholung nicht alle Eier betrifft, sondern ein bestimmter Prozentsatz die Entwicklung abgebrochen hat. Dieser Prozentsatz ist stark von der angewandten Dosis abhängig. Bei einer Fixierung der 7 Stunden alten Eier befinden sich nach der Bestrahlung mit 250r noch 16 % der Eier auf den Stadien I und II, während es nach einer Dosis von 1000r 33 % sind. Bestrahlung mit 3000r ruft bei der Hälfte der Embryonen einen sofortigen Abbruch der Entwicklung herbei.

Es sollte die Aufgabe weiterer Versuche sein, die Frage zu klären, ob eine Abnahme der auf Stadium I und II verbliebenen Eier eintritt, wenn noch länger mit der Fixierung gewartet wird.

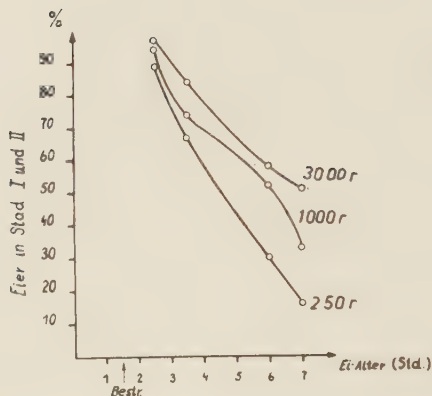


Fig. 6: Abhängigkeit der Entwicklungshemmung der *Drosophila*-Eier vom Ei-Alter zur Zeit der Fixierung.

Die Ergebnisse sind in der Tabelle VI zusammengestellt. Grundsätzlich hat sich an der Verteilung nichts mehr geändert. Der Prozentsatz der Eier in den Stadien I und II nimmt nicht wesentlich ab, wenn erst nach 22 Stunden fixiert wird. Dabei ist es auffallend, daß sich der Dosis-Unterschied zwischen 1000r und 8000r nicht stärker auf die Zahl der sofort abgetöteten Embryonen auswirkt. Allerdings ist die Erholung von der Strahlenwirkung nicht reell, da die Weiterentwicklung noch vor der Gastrulation zum Stillstand kommt. Erst eine Bestrahlung mit 10 000r bewirkt einen bei 90 % der Eier sofort eintretenden Tod.

Es kann bei den angeführten Werten also tatsächlich von Soforttod gesprochen werden, da sie sich auch nach längerer Wartezeit bis zur chemischen Fixierung nicht mehr verändern.

Dosis (r)	Stadien I und II (%)
--	1,5
250	20
1000	49
2000	48
3000	51
8000	57
10 000	89

Tab.VI: Anzahl der Eier in Prozent, die in Abhängigkeit von der Dosis in den Stadien I und II angetroffen werden. Fixierungs-Alter der Eier 22 Stunden. Je Versuch 442 bis 480 Eier.

b) Bestrahlung jüngerer Eier.

Nach FRITZ-NIGGLI ist das 1 3/4 Stunden alte Drosophila-Ei das sensibelste Stadium; die Empfindlichkeit nimmt nach jüngeren und älteren Eiern hin ab. Das wirft die Frage auf, ob sich auch die Werte für die sofort getöteten Eier verändern, wenn ein nicht so sensibles Stadium bestrahlt wird. Da für die Bestrahlung jüngerer Eier die Ablegezeit von 30 Minuten zu lang ist, wurden hierfür die Eier schon nach 10 Minuten den Ablegegläsern entnommen und im Alter von a) 30 Minuten, b) 45 Minuten bestrahlt. Die Analyse der 18 Stunden nach der Ablage fixierten Embryonen zeigt, daß sich die unterschiedliche Empfindlichkeit der bestrahlten Stadien auf die Anzahl der sofort abgetöteten Eier auswirkt. Die Differenz zwischen den im Alter von 30 und 45 Minuten bestrahlten Eiern ist nicht signifikant, der Unterschied zu den im Alter von 1 1/2 Stunden bestrahlten Eiern aber deutlich (Tabelle VII).

Bestrahlungs- alter (Minuten)	Stadien I und II (%)
Kontrolle	2,0
30	46
45	51
90	61

Tab.VII: Abhängigkeit der sofort abgetöteten Eier bei der Dosis 8000r von dem Ei-Alter z.Zt. der Bestrahlung.
(Fixierung im Alter von 18 Std.)

Die zum Vergleich der Empfindlichkeit von 30 Minuten und 90 Minuten durchgeführten Schlüpfratenbestimmungen sind in der Figur 7 dargestellt. Die unterschiedlich große Strahlensensibilität spiegelt sich zwar nicht im Bereich der hohen Dosen wider, tritt aber bei 250r und 500r deutlich hervor.

Bei Eiern, die z.Zt. der Bestrahlung jünger als 1 1/2 Stunden waren, ist demnach nicht nur die Schlüpftrate höher, sondern auch der Prozentsatz der Eier, die ihre Entwicklung nach der Bestrahlung wieder aufnehmen konnten.

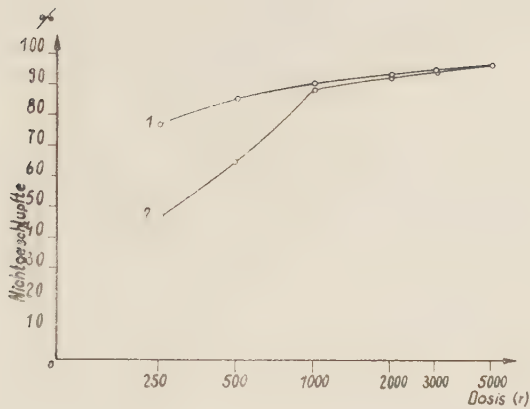


Fig.7: Anzahl der abgetöteten Drosophila-Eier
1 ... Bestrahlungsalter der Eier 90 min
2 ... Bestrahlungsalter der Eier 30 min
Abszisse logarithmisch: Dosis in r
Ordinate arithmetisch: Abtötungsrate

Zur Histologie der bestrahlten Drosophila-Eier

Bei der Untersuchung der Frage nach den histologischen Veränderungen der Drosophila-Eier infolge der angewandten Bestrahlungsdosen soll nur auf die Embryonen eingegangen werden, welche gleich nach der Bestrahlung abgestorben waren oder sich nur noch wenige Stadien weit entwickeln konnten.

Bei der Durchsicht der Präparate fällt ganz allgemein auf, daß sich die bestrahlten Eier durchweg schlechter fixieren lassen als die Kontrollen. Dieses kann einerseits darauf beruhen, daß sich das geschädigte Gewebe der Einwirkung von Fixierungs- und Färbemitteln gegenüber anders verhält als ein intakter Organismus, zum anderen kann bei den abgestorbenen Eiern bereits eine Zersetzung eingetreten sein, da sie bis zur Fixierung bei einer Temperatur von 25°C gehalten wurden. Besonders stark macht sich dieser Unterschied bemerkbar, wenn Kernfärbungen angewandt wurden, die eine vorhergehende Hydrolyse erfordern. Die unbestrahlten Kontrollen überstehen diese Behandlung gut, während bei den bestrahlten Eiern das Gewebe zerreißt.

Unbefruchtete Eier werden durch die Bestrahlung und die nachfolgende Behandlung nicht merklich geschädigt; es konnte kein Unterschied zwischen bestrahlten und nicht bestrahlten Eiern gefunden werden.

Entsprechend dem Prozentsatz Embryonen, die sich nach den kleinsten Dosen wieder erholen konnten, zeigen mehr oder weniger Eier ein normales histologisches Bild. Im Gegensatz dazu sind die auf frühen Entwicklungsstadien verbliebenen Eier mit Zunahme der angewandten Dosis histologisch stärker verändert (Abb.17 und 18).

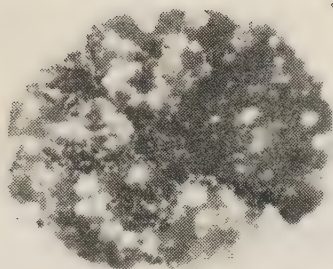


Abb.17: Drosophila-Ei nach 3000r Röntgenbestrahlung
im Alter von 1 1/2 Std.
Fixierungs-Alter: 5 Std. (300-fach).

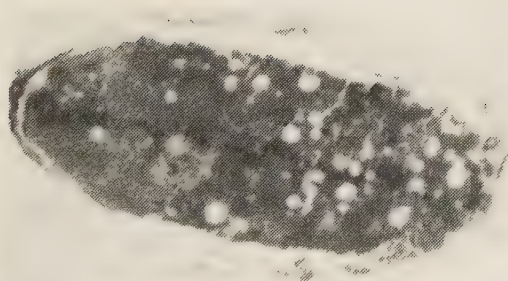


Abb.18: Längsschnitt durch ein Drosophila-Ei nach
einer Dosis von 3000r.
Fixierung im Ei-Alter von 6 Std. (300-fach).

Die höchsten hier benutzten Dosen rufen bei einer Anzahl von Eiern so starke Abweichungen hervor, daß ihr Entwicklungsstadium nicht mehr genau zu identifizieren war. Aus diesem Grunde ist die Tabelle VII über den Soforttod nicht weiter ausgeführt als bis zum Stadium II.

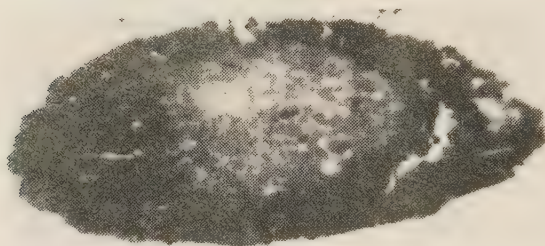


Abb. 19: Geschädigter Embryo nach 3000r Röntgenbestrahlung. Alter zur Zeit der Fixierung: 6 Std. (300-fach).

Diese von der Norm abweichend ausgebildeten Eier fallen schon bei kleinster Vergrößerung im Mikroskop dadurch auf, daß die Dottermasse eine ungerichtete Verteilung aufweist. Nach starker Schädigung durch hohe Dosen (oberhalb 2000r) hat sich der Dotter zusammengeballt und ist an die Peripherie des Eies gerückt, eine Region, die normalerweise nie von Dotter besetzt ist. Auf Querschnitten ist das Innere eines solchen Eies von einem Ring stark gefärbter Dotterkugeln umgeben, in dem sich keine Kerne erkennen lassen. Letzteres mag darauf beruhen, daß sich die Kerne schwächer anfärben als der Dotter und wegen dessen dichter Packung nicht erkennbar sind (Abb. 19 und 20).

Auf Längsschnitten solcher geschädigter Eier liegt die Dottermasse an den Polen; sie sitzt diesen wie eine Kappe auf, während das Zentrum des Eies nur vereinzelte Dotterkugeln aufweist.

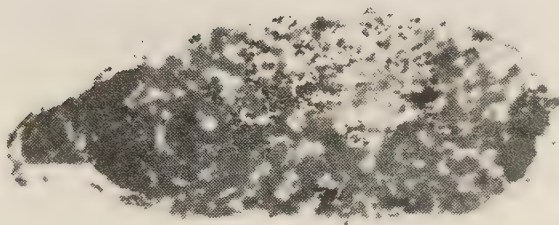


Abb.20: Im Alter von 1 1/2 Std. mit 3000r bestrahlter Embryo.
Alter z.Zt. der Fixierung: 8 Std. (270-fach).

Auch solche Embryonen, die die Gastrulation schon begonnen haben, zeigen eine anormale Verteilung des Nährmaterials. Es liegt auch hier an den Ei-Polen oder kaudal von der Kopffurche. In allen diesen Fällen handelt es sich um eine Verteilung, die auf keinem der unbestrahlten Präparate auftritt und wahrscheinlich eine Folge gestörter Differenzierungsvorgänge ist.

Parallel mit der Dotterverlagerung geht häufig eine starke Vakuolisierung des Plasmas. Der bis auf kleine Körnchen geschrumpfte Inhalt dieser Vakuolen färbt sich mit HEIDENHAIN nur schwach an. Manche sind auch optisch leer; es sind keine Strukturen sichtbar. Das Plasma ist fädiger und hat eine ungleichmäßigere Struktur als bei den Kontrollen.

Neben Bezirken, die zusammenhängend sind und keine besonderen Abweichungen erkennen lassen, ist an anderen Stellen das Plasma in Schollen zerlegt (Abb. 21 bis 23). Zuerst wurde dieses auf eine Veränderung bei der Fixierung zurückgeführt. Schnitte gleichzeitig abgetöteter, nicht-bestrahlter Embryonen zeigen jedoch eine durchgehend gute Fixierung.

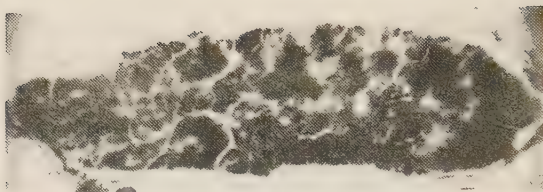


Abb. 21: Längsschnitt durch ein strahlengeschädigtes Drosophila-Ei (3000r).
Fixierung im Alter von 6 Std. (250-fach).

Somit kann es sich nicht primär um Artefacte handeln, die bei der Aufbereitung der Schnitte zustande kommen

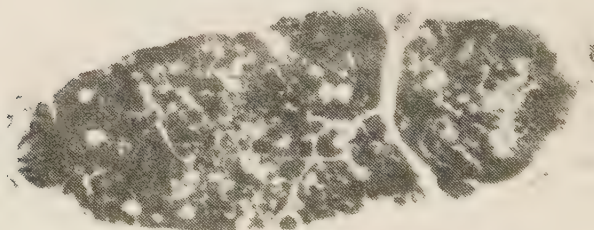


Abb.22: Geschädigtes Ei im Längsschnitt.
Dosis: 2000r, Fixierungsalter: 6 Std.
(270-fach)

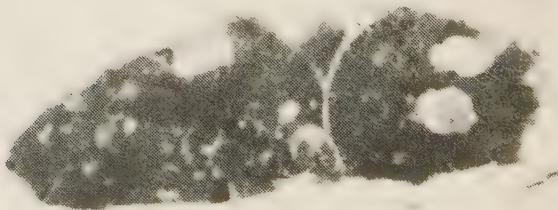


Abb.23: Drosophila-Ei nach 2000r Röntgenbestrahlung.
Fixierung im Alter von 6 Std. (270-fach).

Nach Bestrahlung mit einer Dosis von 250r stirbt ein bestimmter Prozentsatz der Embryonen im Laufe der Gastrulation ab. Von diesen Embryonen haben nicht alle die Gastrula gleich ausgebildet. Vielmehr gibt es solche, die nach Beendigung der Gastrulation ohne sichtbare äußere Veränderungen absterben und andere, die noch während der Invagination die Entwicklung abbrechen. Es läßt sich nicht mit Sicherheit der prozentuale Anteil der einen oder anderen Gruppe angeben, da es eine Vielfalt von Übergängen zwischen beiden Typen gibt.

Sehr häufig tritt folgendes histologisches Bild auf:

Ohne daß es zur Ausbildung einer normalen Blastula kam, war ein Teil des Gewebes eingewandert und sonderte das Ei durch eine Furche in zwei Abschnitte.

Diese Furche kann so groß werden, daß das Gewebe zu beiden Seiten vollständig voneinander getrennt ist. Auch das Gewebe selbst ist anormal ausgebildet; es gibt kein Blastoderm mit der ausgeprägten Zellschicht am Rande des Eies, welche in frühen Gastrulastadien normalerweise noch erhalten ist.

Zur Cytologie der geschädigten Drosophila-Eier

Im Folgenden soll näher auf die strahlenbedingte Schädigung der Zellkerne am Drosophila-Ei eingegangen werden.

Es wurden dafür neben der basischen Kernfärbung nach HEIDENHAIN auch andere Methoden der Färbung angewendet, so die Nuklealreaktion nach FEULGEN mit Gegenfärbung durch Methylgrün, die Färbung mit wässriger Azur I-Lösung (BORSTEL und LINDSLEY 1959) und die Kernfärbung mit Gentianaviolett (ROMEIS 1948). Die Untersuchung fand teils am mikroskopischen Schnittpräparat, teils am angestochenen ganzen Ei statt.

Eine Voraussetzung für die Kernuntersuchungen ist eine möglichst kurze Ablagezeit für die Gewinnung der Eier. Aus diesem Grunde wurden die Fliegen nur für 10 Minuten auf den Ablegeschildchen belassen.

Es wurden zwei Versuchsgruppen aufgestellt:

- a) Sammelzeit 10 Minuten, Bestrahlungs-Alter der Eier 30 Minuten, Fixierungs-Alter 2 Stunden.
Dosis 250r.
- b) Sammelzeit 10 Minuten, Bestrahlungs-Alter der Eier 90 Minuten, Fixierungs-Alter 11 Stunden.
Dosis 8 000r.

a) Die 2 Stunden nach Ablage fixierten Kontrolleier befanden sich zu 92 % im Stadium II (2 Std.), 3,5 % im Stadium III und zu 2,5 % im Stadium I. Die restlichen 2 % entfielen auf nicht-befruchtete Eier.

Innerhalb der einzelnen Eier gab es zwischen den Mitosestadien einzelner Bezirke nur geringe Unterschiede. Allerdings waren sie nie im gesamten Ei gleich. Es glichen sich vielmehr immer nur Regionen, welche von außen nach innen liegend gedacht werden müssen. Der größte Unterschied in den Mitosestadien bestand zwischen den Kernen an der Peripherie und denen im Zentrum. Dieses kann dadurch erklärt werden, daß die Fixierung

des Eies nicht an allen Ei-Orten gleichzeitig stattfindet. Die Flüssigkeit dringt mit einem zeitlichen Unterschied in das Ei ein, so daß der Inhalt nicht überall gleichzeitig koaguliert. Dadurch können noch nicht betroffene Kerne einen weiteren Schritt in der Mitose vorankommen. In den bestrahlten Eiern war es nicht möglich, Bezirke mit gleichweit vorgeschrittenen Mitosen auszumachen. Vielmehr kamen bei dicht nebeneinander liegenden Kernen sehr unterschiedliche Teilungsstadien vor. Gemeinsam für alle Kerne gilt aber, daß späte Mitosestadien fast völlig fehlen. Befindet sich der Kern in der Teilung, dann zeigt er entweder das Bild der Prophase oder der Metaphase. Nur ganz vereinzelt kamen auch Anaphasen vor. Die überwiegende Mehrzahl der Kerne befindet sich jedoch auf dem Stadium der Interkinese. Dieses Stadium färbt sich mit der Feulgen-Methode gar nicht oder nur sehr schwer an. Es kann also nicht mehr von einer synchronen Teilung der Kerne gesprochen werden.

b) In der zweiten Versuchsgruppe sollte untersucht werden, welche cytologischen Veränderungen an den auf jungen Stadien verbliebenen Eiern infolge der Bestrahlung auftreten. Aus diesem Grunde durfte erst einige Stunden nach der Bestrahlung fixiert werden, damit die weniger stark geschädigten Eier noch die Möglichkeit einer Erholung hatten. Bei einer Schlüpftrate von 96 % (Kontrollen) und sehr einheitlich weit entwickelten Kontrolleiern auf den Schnitten ergab die Auszählung der bestrahlten Eier einen Wert von 98 % Ungeschlüpften und bei der histologischen Auswertung wurden weniger als 10 % (8,5 %) Eier gezählt, die sich auf dem Stadium der frühen Gastrula befanden.

Schon bei schwacher Vergrößerung wird beim Vergleich der bestrahlten Eier mit den Kontrollen eine unterschiedliche Ausbildung des Stadiums II sichtbar. Bei den geschädigten Eiern hat nur eine geringe Anzahl Kerne die Peripherie des Eies erreicht. Der einzelne Kern ist aufgequollen und blasig, das Plasma von Vakuolen durchsetzt. Der bei der normalen Wanderung

der Kerne an die Peripherie des Eies mitgeführte Plasmahof ist nur schwer erkennbar, bei den weiter ausgebildeten Blastulae zeichnen sich keine Furchen zwischen den Plasmabezirken ab, welche am intakten Ei der Ort der späteren Zellgrenze ist.

Die Kerne sind von unregelmäßiger Form, während die der Kontrollen auf diesen Stadien einheitlich rund sind, ehe sie sich im fertigen Blastoderm-Stadium verlängern.

Die noch im Ei-Zentrum verbliebenen Kerne sind durch unvollständig durchgeführte Mitosen charakterisiert. Sehr häufig liegen zwei Kerne so dicht beisammen, daß sie nur bei Benutzung des Feintriebess am Mikroskop als zwei Kerne zu erkennen sind. Diese unvollständig getrennten Kerne können vielleicht die Ursache dafür sein, daß auf bestrahlten Embryo-Schnitten die Kerne an der Peripherie starke Größenzunahme erfahren haben. Die Kerne der unbestrahlten Kontrollen haben im Mittel einen Durchmesser von 5 μ . In bestrahlten Eiern dagegen gibt es neben Kernen von normaler Größe viele, deren Durchmesser 9 - 11 μ beträgt; vereinzelt wurden auch Werte von 15 μ gemessen.

Der überwiegende Anteil der Kerne läßt sich mit der Feulgen-Methode nicht anfärben, während auf den Kontroll-Präparaten eine große Ansammlung gut gefärbter Kerne zu erkennen ist. Diese Beobachtung führt zu der Vermutung, daß die bestrahlten Eier infolge der Schädigung keine Mitosen mehr durchführen können, die Kerne sich also in der Interphase befinden.

Bei starker Vergrößerung (900-fach) lassen sich an den wenigen gefärbten Kernen Anomalien in Form und Größe feststellen; dieses betrifft nicht nur die Kerne als Ganzes, sondern insbesondere die Chromosomen. Als die häufigste Störung tritt eine Verklumpung des Kerninhaltes auf, bei der sich die Chromosomen optisch schwer trennen lassen. Sie sind stark kontrahiert wie in einer normalen späten Prophase, nur dichter gepackt. Dieses kann eine Folge von Verklebungen der Chromosomen sein, die bereits in der Äquatorialplatte der vorhergegangenen Mitose stattfand. Dadurch kommen die Chromosomen bei der Teilung in nur einen Kern, welcher damit den doppelten Chromatingehalt besitzt.

Auffallend häufig sind Kerne mit groben Chromatin-Strukturen, verbunden mit dem Auftreten großer Vakuolen im Nucleus. Dabei liegen vor allem an der Kernwand größere, teilweise stark färbbare Chromatinbrocken, während das Innere des Kernes frei davon ist. Diese Chromatinbrocken an der Kernwand nehmen sowohl bei Azurblau- als auch bei Feulgenfärbung den Farbstoff in starkem Maße an und können aus diesem Grunde wegen der fehlenden Feinstruktur leicht mit Dotterkugeln verwechselt werden.

Bei den im bestrahlten Ei selten auftretenden späteren Stadien der Mitose ist das der ungenügend ausgeführten Anaphase am häufigsten. Die Chromosomen sind zwar nach den Teilungspolen hin auseinandergewichen, aber es hat keine vollständige Trennung des alten Chromosomensatzes stattgefunden. Die neuen Kerne sind durch "Brücken" miteinander verbunden. Vereinzelt sind die Chromosomengarnituren so weit auseinandergerückt, daß das sie verbindende Chromosomenstück stark in die Länge gezogen und verschmälert ist.

Sind in dem Präparat mit den Schnitten der Eier Entwicklungsstadien vorhanden, die von retinierten Eiern herrühren, so weisen diese wesentlich weniger geschädigte Kerne auf. Meist sind diese Kerne auch gut mit Feulgen angefärbt, was auf eine rege Mitoseaktivität schließen läßt.

Diskussion der Ergebnisse

Wie aus den Versuchen hervorgeht, werden die *Drosophila*-Eier nicht total und sofort endgültig geschädigt, wenn sie mit Dosen bestrahlt werden, die höher als 250r liegen. Die niedrigste der hier angewandten Dosen, nämlich 250r, bewirkt 80 %ige Letalität der Eier. Die Eier sind also einer sehr starken Bestrahlung ausgesetzt und man könnte erwarten, daß sie sich nach der Exposition nicht wieder erholen.

Die Ergebnisse zeigen jedoch, daß die nicht schlüpfenden Embryonen keineswegs einheitlich stark geschädigt sind; sie können daher nicht als Ganzes den geschlüpften Tieren gegenübergestellt werden.

Unmittelbar nach der Röntgenbestrahlung der Eier setzt deren Entwicklung aus. Dieser Entwicklungsstop betrifft alle Eier der verschiedenen Versuchsgruppen. Die Bestrahlung wirkt erst einmal generell wie ein Schock, der die Lebensvorgänge blockiert. Die Eier bleiben in der Entwicklungsphase stehen, in der sie sich zur Zeit der Bestrahlung befanden.

Dabei hängt es von der angewandten Dosis ab, ob es sich um eine vorübergehende Unterbrechung der Embryogenese handelt oder um einen endgültigen Stillstand. Sind die Dosen nicht zu hoch (unter 3000r), vermag sich ein gewisser Prozentsatz der Individuen wieder zu erholen. Nach einer Latenzzeit, deren Dauer mit der Bestrahlungsdosis zunimmt, wird die Entwicklung wieder aufgenommen und in den mit 250r bestrahlten Versuchsgruppen sogar bis zur schlüpfenden Larve fortgesetzt. Aber unabhängig davon, wie weit die Eier nach der Erholung von der unmittelbaren Schädigung noch wachsen und sich differenzieren können, ist ihre Entwicklung stark gegenüber den unbestrahlten Kontroll-Eiern verzögert. Dabei ist die Größe der Verzögerung ebenfalls wieder dosisabhängig.

Dieses wirkt sich auf die Form der Verteilungskurven nach den einzelnen Dosen und unterschiedlichen Fixierungszeiten aus. Je höher die Dosis war, desto weiter rückt das Maximum der Kurve nach links, d.h. die jüngeren Stadien sind stärker vertreten. Die zur Erholung notwendige Zeit ist nach einer höheren Dosis größer. Demnach haben die Eier, die ihre Entwicklung nach der Latenzzeit wieder aufnehmen, eine stärkere

Verzögerung gegenüber den Kontrollen als die weniger strahlengeschädigten. Die Verzögerung bleibt innerhalb der Versuchsgruppen der Figuren 1 - 4 nicht gleich. Während in Figur 1 das Maximum der Eier jeder Bestrahlungsgruppe um eine Stunde gegenüber den Kontrollen zurückliegt, beträgt die Verzögerung bei Fixierung im Ei-Alter von 3 1/2 Stunden schon 1 1/2 Stunde. In den der Figur 4 und 5 zugrundeliegenden Versuchen sind die am weitesten entwickelten Eier noch um 3 bis 4 Stunden gegenüber den unbehandelten Eiern verzögert. Es kommt also auch nach Wiederaufnahme der Entwicklung nicht mehr zu einer zeitlich normal ablaufenden Embryogenese. Zwar wurde von den bestrahlten Eiern die Mitose-tätigkeit von neuem begonnen, aber die Mitose-aktivität nimmt nicht zu, wie es JÜNGLING und LANGENDORFF nach Bestrahlung von *Vicia faba* beschreiben (1930).

Wird die Zeit zwischen Bestrahlung und Fixierung verlängert, verbreitert sich zwar das Verteilungsspektrum, zeigt aber auch hier bei den höchsten Dosen die größte Häufigkeit der Eier an den jungen Stadien. Die Verlängerung der Zeit bis zur Fixierung spielt bei stark bestrahlten Eiern keine große Rolle. Sie haben zwar den Schock überwunden, sind aber zu sehr geschädigt, um noch wesentliche Wachstumsvorgänge auszuführen. Sie sterben auf Stadien ab, die vor der Ausbildung differenzierter Gewebe liegen. Es handelt sich also in diesen Fällen nicht um eine reelle Erholung, sondern der Organismus kann nur noch eine gewisse Anzahl Kernteilungen vollbringen, ehe er endgültig abstirbt.

Von einem generell nach der hier angewandten starken Röntgenbestrahlung eintretenden Soforttod, wie ihn FRITZ-NIGGLI für Dosen oberhalb 400r angibt, kann nicht gesprochen werden. Dieses steht im Einklang mit Befunden von HENLEY und COSTELLO (1957) an befruchteten Eiern von *Chaetopterus* und Vinogradova (1960) an *Ascaris*-Eiern. Bei *Drosophila* tötet eine Dosis, die auf Grund der Schlüpfzeiten-Bestimmung eine 100 %ige Letalität bewirkt, nicht alle Eier im Stadium I ab. 5 1/2 Stunden nach der Bestrahlung mit den

höchsten Dosen sind nur ca. 50 % der Eier auf dem Stadium verblieben, das sie zur Zeit der Bestrahlung zeigten. Demnach konnte eine relativ hohe Anzahl die Embryogenese fortsetzen.

Die histologische und cytologische Untersuchung zeigt aber, daß bei den Embryonen, die nach der Latenzzeit sich wieder erholten, der Ablauf der Entwicklung verändert ist. Die Kerne teilen sich nicht mehr synchron. Das mag daran liegen, daß einerseits eine Anzahl von Kernen total geschädigt ist, zum anderen die Kerne unterschiedlich lange Zeiten für die Wiederaufnahme der Mitosetätigkeit benötigen.

FELC und HOWARD (1955) beobachteten am Meristem von *Vicia faba* eine Reduktion der Mitosen auf 60 %. Dieser Wert änderte sich nicht, ob 50r oder 200r verabreicht wurden. Die Verfasser schlossen daraus, daß für die Reduktion der Mitosen die Zellen verantwortlich sind, die sich während der Bestrahlung im ersten Teil der Interphase befanden und eine Störung der DNS-Synthese stattfand.

Die Schädigung der DNS durch die Bestrahlung äußert sich auch in dem Auftreten feulgen-negativer Kerne. Entweder ist die Nukleinsäure des Kernes so stark verändert, daß sie keine Feulgen-Reaktion mehr ergibt, oder die schon in Teilung gestandenen Kerne haben diese noch vollendet, sind aber nicht mehr in der Lage, eine neue einzuleiten und daher im Stadium der Interkinese verblieben.

Bekanntlich ist die DNS-Synthese besonders empfindlich gegenüber ionisierenden Strahlen. HOLMES und MEE (1954) beschreiben eine zeitliche Verschiebung der Synthese nach Röntgenbestrahlung, verbunden mit einem Aussetzen der Mitose. Erst wenn die DNS wieder in genügend großer Menge vorhanden ist, beginnt die nächste Mitose. Bei direkter Beobachtung lebender Neuroblasten von *Cartophaga* konnte CARLSON (1942) ein Mitose-Minimum 100 Minuten nach der Bestrahlung mit 431r feststellen, sowie eine Rückkehr fortgeschrittener Teilungsstadien zu frühen Phasen der Mitose. Eine Bestätigung dieser Reaktion auf die Bestrahlung mitotisch aktiven Gewebes ergab die Arbeit von CHANDLER (1958) am Wurzel-Meristem von *Allium cepa*; auch hier kehrten bestrahlte Metaphasen zu

Prophasen zurück. Auf eine ähnliche Ursache kann in der vorliegenden Arbeit das Fehlen später Teilungsstadien zurückgeführt werden. Bei den häufig anzutreffenden frühen Prophasen würde es sich dann um Kerne handeln, die entweder zur Zeit der Bestrahlung in der Prophase standen und dort verblieben sind oder nach der Bestrahlung von späteren Mitosestadien zu früheren zurückkehrten. Die wenigen beobachteten späten Teilungsstadien weisen eine gestörte Ausbildung der Teilungsfiguren auf; die Chromosomen sind verklumpt und verklebt.

Unvollständig ausgeführte Mitosen sind nach MARQUARDT (1949) die Ursache für die Volumenzunahme der Kerne röntgenbestrahlter Zellen. Wenn nach Überwindung der Strahlenschädigung, durch die die Mitose nicht über die Prophase hinausgelangte, wieder ein Ruhekern rekonstruiert wird, weist er, ähnlich wie nach Colchicin-Gabe bei Pflanzen, den doppelten Chromosomensatz auf. Nach HARRINGTON (1951) kann die Zunahme der Kerngröße jedoch nicht auf einer Verdoppelung des Chromatingehaltes herrühren. Er beobachtete an embryonalen Zellen, daß bereits wenige Minuten nach der Röntgenbestrahlung ein Anschwellen der Kerne auftrat, nach einer Dosis von 12 000r sogar sofort nach der Strahleneinwirkung. Als Ursache nimmt er eine Erhöhung des osmotischen Druckes bei gleichbleibender Permeabilität der Membran an. Auch am Drosophila-Ei konnte bereits 1 1/2 Stunden nach der Bestrahlung an fixierten Eiern eine Kernvergrößerung festgestellt werden. Da diese Zeit noch innerhalb der Latenzzeit liegt, muß eine Verdoppelung des Chromosomensatzes als Ursache ausgeschlossen werden.

Beim Übergang von der Blastula zur Gastrula ändert sich der Stoffwechsel des Embryos stark. Die beim Drosophila-Ei wie bei allen Mosaik-Eiern schon determinierten Bezirke erfahren jetzt ihre Differenzierung. In diesem Abschnitt der Entwicklung manifestieren sich Schädigungen, die das Ei in früheren Entwicklungsstadien trafen. Damit hängt es zusammen, daß die mit Dosen über 250r bestrahlten Drosophila-Eier ihre Entwicklung mit dem Beginn der Gastrulation beenden. Lediglich nach Bestrahlung mit 250r gehen noch ca. 20 % der Eier über die Gastrula hinaus, während Eier, die nach 500r auf späteren Stadien als der Gastrula starben, histologisch stark verän-

Nach den Untersuchungen von ULRICH an kern- und plasma- bestrahlten Eiern muß angenommen werden, daß die Schä- digung der Embryonen hauptsächlich auf einer Störung des Kernes beruht. Dieses geht auch aus der vorliegenden Un- tersuchung hervor, da besonders die Entwicklungsvorgänge gestört sind, für die der Kern verantwortlich ist.

Zusammenfassung der Ergebnisse

- 1.) Nach der Röntgenbestrahlung mit Dosen von 250-8000r 1 1/2 Stunden alter Drosophila-Eier wurde eine histologische Analyse der Absterbestadien durchgeführt, die folgende Ergebnisse zeigte:
 - a) Nach der Bestrahlung tritt ein vorübergehender Entwicklungsstopp ein, dessen Dauer dosisabhängig ist.
 - b) Nach der Latenzzeit setzen die Eier ihre Entwicklung mit einer Verzögerung gegenüber den unbestrahlten Eiern fort. Die Geschwindigkeit der Entwicklung ist herabgesetzt.
 - c) Mit Zunahme des Zeitraumes zwischen Bestrahlung und Fixierung verbreitert sich das Verteilungsspektrum der Eier.
 - d) Mit Zunahme der Dosis rückt das Maximum der Verteilungskurve nach jüngeren Stadien hin.
 - e) Bei Dosen oberhalb 250r bricht die Entwicklung der Eier vor Ausbildung der fertigen Gastrula ab. Geringere Dosen verhindern die Gastrulation nicht.
- 2.) Es wurde die Homogenität des Versuchsmaterials an Verteilungskurven unbestrahlter Kontrollen geprüft.
- 3.) Der Soforttod bestrahlter Eier wurde untersucht und seine Abhängigkeit von der Dosis ermittelt.
- 4.) Histologische und cytologische Anomalien der bestrahlten Eier wurden festgestellt:
 - a) Der Synchronismus der Mitosen bricht infolge der Bestrahlung zusammen.
 - b) Es treten keine normalen späten Mitosestadien auf.
 - c) Das Gewebe und die Zellkerne zeigen stark von der Norm abweichende Ausbildung.

Literatur-Verzeichnis

- AMY, R.: A Comparative Study of the Effects of β -, γ - and X-Rays on the Development in Habrobracon.
Rad.Res.3, 166, 1955.
- /- The Changing Ultraviolet Sensitivity of the Developing Habrobracon Embryo.
Anat.Rec. 132, 404, 1958.
- AMY, R.; ERNST, M.: Sensitivity of the Developing Habrobracon Embryo to Ultraviolet Radiations.
Proc.Pensylv. Acad.Sc. 32, 254, 1958.
- AMY, R.; BORSTEL, R.: The Effect of Different Wave-lengths of Ultraviolet Light on the Habrobracon Egg.
Atti 20 Cong. Int.Fot. Turin, 1957.
- BORSTEL, R. ; LINDSLEY, R.: Insect Embryo Chromosome Technique.
Stain Techn. 34, 23, 1959.
- BORSTEL, R. ; ROGERS, R.: Alpha-Particle Bombardement on the Egg of Habrobracon.
Rad. Res. 8, 248, 1958.
- BORSTEL, R. ; WOLFF, S.: Photoreactivation Experiments on the Nucleus and Cytoplasm of the Habrobracon-Egg.
Proc.Nat.Acad.Sci. US, 41, 1004, 1955.
- CARLSON, J.: Immediate Effects of 31r X-Rays on the Different Stages of Mitosis in Neuroblasts of Corthophaga.
J. Morph. 71, 449, 1942.
- CHANDLER, A.: The Effect of Low Doses of X-Irradiation on the Frequency of Mitotic Stages in Allium Root.
Biol.Bull. 112, 305, 1958.
- DEMEREK, M.: Biology of Drosophila.
New York, Wilsey & Sons. 1950.
- FRITZ-NIGGLI, H.: Biologische Analyse der Strahlenschädigung von Drosophila-Eiern durch 180 kV Röntgenstrahlen und ultraharten 31 MeV-Strahlen.
Naturwiss. 39, 485, 1952a.
- /- Quantitative und qualitative Analyse der Röntgenschäden im Drosophila-Versuch.
Fortschr. Röntgenstr. 76, 218, 1952b.
- /- Biologische Versuche mit dem 31-MeV-Betatron.
Fortschr. Röntgenstr. 80, 1954.

- FRITZ-NIGGLI, H.: Vergleichende Analyse der Strahlenschädigung von Drosophila-Eiern mit 180 kV und 31 MeV.
Fortschr. Röntgenstr. 83, 1955.
- FRITZ-NIGGLI, H.: Strahlenbiologie, Grundlagen und Ergebnisse.
Thieme-Verlag Stuttgart. 1959.
- GLASSER, O.; MAUTZ, F.: Studies on the Effect of X- and γ -Rays upon the Egg of Drosophila mel.
Am.J.Roentg. Radium Therapy 29, 818, 1933.
- HARRINGTON, N.; KOZA, R.: Effect of X-Radiation on the DNA and on the Size of Grasshopper Embryonic Nuclei.
Biol. Bull. 101, 138, 1951.
- HENLEY, C.; COSTELLO, D.: The Effects of X-Irradiation on the Fertilized Eggs of the Annelid Chaetopterus.
Biol. Bull. 112, 185, 1957.
- HENSHAW, P.; HENSHAW, B.: Changes in Susceptibility of Drosophila-Eggs to α -Particles.
Bull. Biol. 84, 1933 a.
- /- Changes in Susceptibility of Drosophila Eggs to X-Rays.
Radiology 21, 239, 1933 b.
- HENSHAW, P.; FRANCIS, M.: Biological Measurement of Gamma Rays.
Radiology 27, 569, 1936.
- HEUSE, O.: Z. angew. Physik 5, 361, 1953.
- HINTON, C.: Plastron Respiration in the Egg of Drosophila and other Flies.
Nature 184, 280, 1959.
- HOLMES, B.; MEE, L.: The Inhibition of DNA Synthesis by Irradiation with Special Preference to Irradiation in the Early Stages of Liver Regeneration.
Radiobiol. Symp. 1954.
- HUETTNER, A.: Irregularities in the Early Development of the Drosophila me. Egg.
Z.Zellf. 4, 599, 1927.
- /- Continuity of the Centrioles in Drosophila me.
Z.Zellf. und mikroskop. Anat. 19, 119, 1933.
- JÜNGLING, O.; LANGENDORFF, H.: Über die Wirkung verschieden hoher Dosen auf den Kernteilungsablauf bei Vicia faba.
Strahlenther. 38, 1, 1930.

- LANGENDORFF, H.; SOMMERMEYER, K.:
Strahlenwirkung auf Drosophila-Eier. I.
Fund. Radiologica 4, 1939.
- /-
Strahlenwirkung auf Drosophila-Eier. II; III.
Strahlenther. 67, 1940 a.
- /-
Strahlenwirkung auf Drosophila-Eier. IV; V.
Strahlenther. 68, 1940 b, c.
- MARQUARDT, H.: Die Schädigung des Zellkernes durch
Röntgenstrahlen.
Experientia 5, 31, 1949.
- MAVOR, J.: Studies on the Physiological Effects of
X-Rays: On the Variation in the Lethal
Dose during the Metamorphose in the Fruit-
Fly Drosophila.
Amer. J. Physiol. 55, 238, 1921.
- PACKARD, C.: The Measurement of Quantitative Biological
Effects of X-Rays.
J. Cancer Res. 10, 319, 1926.
- /-
A Biological Measure of X-Ray Dosage.
J. Cancer Res. 11, 282, 1927.
- PAINTER, T.: On the Synthesis of Cleavage Chromosomes.
Proc. Nat. Acad. Sci. 26, 95, 1940.
- PELC, HOWARD: Effect of Various Doses of X-Rays on the
Number of Cells Synthesizing DNA.
Rad. Res. 3, 135, 1955.
- RABINOWITZ, M.: Cytology and Early Embryology of Drosophila
Egg.
J. Morph. 69, 1, 1941 a.
- /-
Yolk Nuclei in the Egg of Drosophila mel.
Anat. Rec. 81, 80, 1941 b.
- RAJEWSKY, B.: Strahlendosis und Strahlenwirkung.
Thieme-Verlag Stuttgart, 1956.
- ROGERS, R.; BORSTEL, R.v.: Alpha-Particles Bombardement of the
Habrobracon Egg.; Sensitivity of the Nucleus.
Rad. Res. 7, 484, 1957.
- ROMEIS, B.: Mikroskopische Technik.
Leibnitz-Verlag München, 1948.

- SONNENBLICK, B.: Cytology and Development of the Embryos of X-rayed Adult *Drosophila mel.*
Proc.Nat.Acad.Sci. US. 26, 373, 1940.
- STEENBECK, L.: Histologische Untersuchung zum "Frühtod" röntgenbestrahlter *Drosophila*-Eier.
Naturwiss. 8, 310, 1961.
- ULRICH, H.: Ergebnisse einer partiellen Röntgenbestrahlung von *Drosophila*-Eiern.
Biol. Zentralbl. 70, 1951.
- /- Killing of *Drosophila* Eggs by Partiiell X-Raying.
Drosoph. Inf.Serv. 25, 130, 1951.
- /- A Convanient Method of Collecting Large Numbers of *Drosophila* Eggs Homogeneous in Age.
Drosoph. Inf. Serv. 27, 124, 1953.
- /- Ein Vergleich der Röntgenstrahlenwirkung auf Kern und Plasma des *Drosophila*-Eies.
Biol. Zentralbl. 74, 1955.
- /- Die Strahlenempfindlichkeit von Zellkern und Plasma und die indirekte mutagene Wirkung der Strahlen.
Verh.dtsch.Zool.Ges. 1956.
- /- Die mutagene Röntgenbestrahlung auf das ungefurchte *Drosophila*-Ei und ihre O₂-Abhängigkeit.
Rev. Suisse Zool. 65, 1958.
- VINOGRADIVA, U.D.: Strahlenempfindlichkeit und Embryogenese der Eier von *Ascaris suum*.
Biofisika V, 1, 1960 (russisch).

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr.
Dr.h.c. Dr.h.c. B. RAJEWSKY, möchte ich für
die Anregung zu dieser Arbeit und für wert-
volle Hinweise bei ihrer Durchführung herz-
lich danken.

Ebenfalls bin ich Fräulein Dr. E. REINHOLZ
zu großem Dank für die Diskussionenverpflich-
tet, die meine Arbeit sehr gefördert haben.

Lebenslauf

Ich wurde am 19. Januar 1932 in Berlin-Siemensstadt als erstes Kind des Physikers Dr. Max Steenbeck und seiner Ehefrau Martha, geb. Witt, geboren.

Von 1938 bis 1942 besuchte ich die Grundschule und trat 1942 in die Oberschule Siemensstadt ein. Nach einem halbjährigen Aufenthalt in einem Lager der Kinderlandverschickung in Bansin übersiedelte ich 1943 nach der Evakuierung Berlins mit meiner Mutter und zwei Brüdern nach Willenberg/Ostpreußen. Hier besuchte ich wegen Überfüllung der Oberschule die Grundschule und ging danach ein halbes Jahr auf die Oberschule in Ortelsburg.

Von Mai 1944 bis Mai 1945 wohnte ich mit meiner Mutter in Rochlitz/Sudeten; in dieser Zeit besuchte ich die Mittelschule am Ort. Bis Oktober 1945 lebten wir nach der Ausweisung aus Rochlitz in Schreiberhau/Riesengeb. und kehrten danach nach Berlin zurück.

Im Februar 1946 zogen wir zu meinem Vater, der seit 1945 in der UdSSR arbeitete. Bis 1949 wohnte ich bei meinen Eltern in Suchumi am Schwarzen Meer und hatte infolge des Lehrermangels sehr unregelmäßigen Schulunterricht. Im November 1949 verzog ich nach Stawropol, wo ich bei einer russischen Familie wohnte und eine russische 10-Jahresschule besuchte.

Nach unserer Rückkehr nach Deutschland 1950 trat ich in die Grete-Unrein-Oberschule in Jena ein und bestand dort 1952 das Abitur.

Von 1952 bis 1958 studierte ich in Jena Biologie und legte 1958 das Abschlußexamen für Diplombiologen ab. (Diplomarbeit über " Histologische und morphologische Untersuchung an Carabiden als Beitrag zur Frage der Neurosekretion " bei Prof. Dr. M. Gersch.)

Im Juni 1958 übersiedelte ich für drei Jahre nach Frankfurt/Main und fertigte am Max-Planck-Institut für Biophysik unter der Leitung von Herrn Professor Dr. Dr.h.c. Dr.h.c. B. Rajewsky meine Doktorarbeit an.

Seit 1961 wohne ich in Jena.

